CA 72-4®

^{125}I IRMA Kit

For the quantitative determination of
TAG 72 in serum

Instruction Manual
Manuel d'Instructions
Testanleitung
Manual de Instrucciones
Manuale di Istruzioni
Felhasználoi utasítás
Návod k použití
Εγχειρίδιο οδηγιών

REF: R0056

DiaSorin

Stillwater, Minnesota 55082-0285, U.S.A.

TABLE OF CONTENTS

CA 72-4 IRMA

Instructions for Use

REF R0056 50 tests

English

IVD **For professional use only!**

Intended Use

In vitro assay for the quantitative determination of TAG 72® (tumor-associated glycoprotein 72) in serum during the follow-up of patients with gastric carcinomas or with mucinous-type ovarian carcinoma.

Summary and Explanation of the Test

In 1981, Colcher and coworkers prepared the monoclonal antibody B 72.3 after immunization of mice with a liver metastasis fraction of a mammary carcinoma. The high-molecular glycoprotein (MW 220,000 - 1,000,000) detectable with B 72.3 and belonging to the group of mucins, was termed TAG 72. The second monoclonal antibody cc49 with a 5- to 10-fold higher affinity was raised against highly purified TAG 72. Both antibodies recognize different oligosaccharide epitopes of TAG 72.

Histological detection of the tumor-associated antigen TAG 72 is possible on neoplastic cells of the breast, lung, colon, stomach and the ovaries. Other malignant and benign tumors as well as healthy, mature tissues do not exhibit any reaction to TAG 72 antibodies. The only exception is the secretory endometrium.

Principles of the Procedure

Two-site immunoradiometric assay (sandwich principle) using two highly specific monoclonal antibodies. The monoclonal antibody cc49 is used for the coating of the solid phase (coated tube) and the monoclonal antibody B 72.3 is used for the tracer.

During the first incubation, the CA 72-4 present in patient samples and calibrators is bound to the antibody immobilized at the test tube wall. Unbound material is removed by a washing step.

During the second incubation, the tracer antibody reacts with the CA 72-4 already bound. After removal of excess tracer by a second washing step, the radioactivity remaining at the tube wall is measured in a gamma scintillation counter.

CONTENTS Material Provided

Determinations	**50**
^{125}I-anti-CA 72-4, monoclonal (mouse), red radioactive content (kBq / µCi)	11 mL < 222 /6
5 calibrators A-E (0.8 mL) in human serum albumin (concentration see quality control report)	1 set
Assay buffer, blue	6 mL
Diluent (0 U/mL) in human serum albumin	6 mL
Test tubes, coated with anti-CA 72-4, monoclonal (mouse)	50
Control, human, lyophil. (concentration see vial label)	1 mL

CA 72-4® is a registred trademark of Fujirebio Diagnostics Inc.

Material Required but not Provided

- Micropipets (100 µL, 200 µL, 1000 µL) with disposable plastic tips
- Vortex mixer
- Manual or automatic washer with aspiration device
- Horizontal shaker
- Gamma scintillation counter
- Alternatively an appropriate automated analyzer system, if available
- Uncoated polystyrene tubes for the dilution of sera and controls
- Purified water

Reagents Containing Iodine-125

This kit contains radioactive material which does not exceed 6.04 µCi (224 kBq) of iodine-125. Appropriate precautions and good laboratory practices should be used in the storage, handling, and disposal of this material.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a general license:

This radioactive material may be received, acquired, possessed and used only by physicians, veterinarians in the practice of veterinary medicine, clinical laboratories or hospitals, and only for in vitro clinical or laboratory tests not involving internal or external administration of the material, or the radiation therefrom, to human beings or animals. Its receipt, acquisition, possession, use and transfer are subject to the regulations and the general license of the U.S. Nuclear Regulatory Commission or of the state with which the Commission has entered into an agreement for the exercise of regulatory authority.

1. Storage of radioactive material should be limited to a specifically designated area.
2. Access to radioactive materials must be limited to authorized personnel only.
3. Do not pipette radioactive material by mouth.
4. Do not eat or drink within designated radioactive work areas.
5. Areas where spills may occur should be wiped up, then washed with an alkali detergent or radiological decontamination solution. Any glassware used must be rinsed completely with water before washing with other laboratory glassware.

For practitioners or institutions receiving radioisotopes under a specific license:

The receipt, use, transfer and disposal of radioactive materials are subject to the regulations and conditions of your specific license.

WARNING: This product contains a chemical known to the State of California to cause cancer.

ATTENTION: Radioactivity printed in the package insert may be slightly different from the radioactivity printed on the box label and on the tracer vial label. The box label and the tracer vial label indicate the actual amount of radioactivity at the calibration date where the package insert indicates the theoretical radioactivity of the kit.

Reagents Containing Sodium Azide

CAUTION: Some reagents in this kit contain sodium azide. Sodium azide may react with lead or copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up. For further information, refer to “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts,” in the Manual Guide-Safety Management No. CDC-22 issued by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparation of Reagents

Allow test components to reach room temperature (18–25°C) prior to testing and mix thoroughly **(Avoid foam formation).**

Control must be opened carefully (vacuum) and reconstituted with 1 mL of purified water. Avoid heavy shaking when dissolving (foaming). Make sure that lyophilized material adhering to the screw cap is also dissolved.

Storage of Reagents

Reconstituted control: 1 week at 2–8°C or 4 weeks at –20°C.

Store all reagents at 2–8°C until the expiry date printed on the package label.

- **Keep upright for storage.**
- **Keep away from direct light.**

Sample Collection, Material and Storage

- Collect samples using standard procedures.
- Sample material: serum; disturbances with plasma are not known.
- Storage at 2–8°C: 24 hr.
- For longer storage periods, freeze to below –20°C.
- Frozen samples should only be thawed once.
- Stored samples should be thoroughly mixed prior to use (Vortex mixer).
- Do not use samples which are agglutinated, lipemic, hemolysed, icteric or contaminated.

Interfering Substances

No interference with test results is seen by concentrations of bilirubin < 0.125 mg/mL, hemoglobin < 500 mg/dL or triglycerides < 12.5 mg/mL.

Procedural Notes

- The single components of each kit are carefully matched. In case of exchange or mixture of any components from different lots the manufacturer does not guarantee reliable results.
- Strictly adhere to the pipetting step sequence.
- The measuring time at the gamma counter must be adjusted for counting at least 1 minute.
- This kit must not be used after the expiry date printed on the package label.
- Observe quality control guidelines for medical laboratories.
- Avoid microbial contamination of the reagents.

Test Procedure

It is recommended that calibrators and samples are assayed in duplicate.
If values are expected above the highest calibrator concentration, samples should be further diluted with the diluent (e.g. by factors 10, 100, 1000).
Alternatively to the manual performance and evaluation an appropriate automated analyzer system can be used on responsibility of the laboratory.

1. Pipet 100 µL assay buffer in all tubes.
2. Pipet 100 µL each of calibrator, control or patient sample, mix (vortex) and cover with plastic foil.
3. Incubate for 4 hours (± 5 min) at room temperature (18–25°C) on a horizontal shaker.*
4. Aspirate the liquid.
5. Wash all tubes 3 x with 2 mL purified water.
6. Add 200 µL ^{125}I-anti-CA 72-4, vortex.
7. Incubate for 18-20 hours at 6°C (± 2°).
8. Aspirate the liquid.
9. Wash all tubes 3 x with 2 mL of purified water.
10. Measure radioactivity (CPM) in all tubes (at least 1 min).

*** Keep shaking conditions constant!**
Optimum:
Amplitude 20 mm = 150 rpm
Amplitude 10 mm = 220 rpm
Amplitude < 8 mm = 300 rpm

100 µL	Pipet assay buffer
100 µL	Add calibrator, control or patient sample
	Mix
4 h (± 5 min)	Incubate at room temperature (18–25°C) on a shaker*
	Aspirate
3 x 2 mL	Wash with purified water
200 µL	Add ^{125}I-anti-CA 72-4
	Mix
18-20 h	Incubate standing at 6°C (± 2°C)
	Aspirate
3 x 2 mL	Wash with purified water
1 min	Measure (gamma scintillation counter)

*** Keep shaking conditions constant!**
Optimum:
Amplitude 20 mm = 150 rpm
Amplitude 10 mm = 220 rpm
Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Calculation of Results

The calibrator curve is established manually as follows:

1. Determine the mean CPM for each pair of duplicate tubes.
2. Divide the mean CPM of each calibrators (B) by the mean CPM of the highest calibrator (B_{max}) and multiply by 100 in order to obtain the percentage of relative binding ($\%B/B_{max}$) for each calibrator.
3. On semi-log paper, plot the relative binding of each calibrator ($\%B/B_{max}$) on the Y-axis versus the corresponding concentrations on the X-axis.
4. Read sample concentrations (U/mL) directly off the calibrator curve by their corresponding relative binding ($\%B/B_{max}$).

Samples with counts above the highest calibrator concentration must be diluted with the kit diluent and re-assayed. For the final concentration of such samples, the appropriate dilution factor has to be considered.
The instrumental calculation of radio-immunological measuring values is based on a spline approximation.

Quality Control

Observe quality control guidelines for medical laboratories.
Validity and precision of the results should be checked with control sera or pool sera prepared by the laboratory.
The control included with the kit is well suited for in-house quality control in the laboratory. This control should be simultaneously tested with each test run and treated like patient samples. The expected control range is printed on the control label.

Expected Values

Sera of apparently healthy blood donors (n=100) show CA 72-4 values up to approx. 4 U/mL (95th percentile).

Since CA 72-4 values may vary depending on the laboratoy method used, each laboratory should establish its own reference range.

Limitations of the Procedure

Patients with malignancies may exhibit CA 72-4 values within the normal range. Elevated CA 72-4 values may be observed in patients with benign diseases such as chronic liver impairment or benign ovarian tumors. Therefore, CA 72-4 serum levels provide no evidence of the presence or absence of malignancies. They may only be interpreted in context with the clinical picture and other diagnostic procedures. The CA 72-4 assay as the only criterion should not be used for cancer screening. Elevated concentrations of CA 72-4 may also occur in patients with non small cell lung cancer.

HAMA

Patient samples containing human anti-mouse antibodies (HAMA) may give falsely elevated or decreased values. Although HAMA-neutralising agents are added, extremely high HAMA serum concentrations may occasionally influence results. These samples should not be used for the CA 72-4 IRMA assay.

Analytical Data

Calibration

The test has been calibrated using the Fujirebio IRMA CA 72-4® assay.

Measuring range

CA 72-4 IRMA measures concentrations between 3 and 100 U/mL.

High-dose hook

No high-dose hook effect was observed for CA 72-4 concentrations up to 1250 U/mL.

Precision

Intra-assay variation Mean value (U/mL)	CV (%)	n=	Inter-assay variation Mean value (U/mL)	CV (%)	n=
9.1	3.0	3	9.4	14.0	7
24.9	2.5	3	25.3	8.2	7
71.2	1.4	3	68.1	5.4	7

Specificity

The CA 72-4 IRMA assay uses the monoclonal antibodies B 72.3 and cc49. These are only available at Fujirebio, their licensees and representatives. Information about the specificity of the antibodies is described in the respective literature (1-5).

Linearity upon Dilution

A patient's serum was diluted with diluent and then measured. The measured values were compared with expected values obtained from linear regression.

Original concentration: 42.7 U/mL

Dilution	Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
1 : 1.25	34.6	34.7	99.6
1 : 1.7	27.2	25.6	102.6
1 : 2.5	18.3	18.4	99.4

Recovery

A patient's serum with low CA 72-4 content was spiked with different amounts of CA 72-4 and then measured.

Original concentration: 1.9 U/mL

Measured value (U/mL)	Expected value (U/mL)	Recovery (%)
60.6	60.6	100
47.9	48.9	98
25.4	25.4	100

CA 72-4 IRMA — Mode d'emploi
REF R0056 — 50 tests — Français

IVD — **Pour usage professionnel uniquement!**

Indication

Dosage *in vitro* pour la détermination quantitative de TAG 72® (glycoprotéine tumorale 72) dans le sérum dans le cadre du suivi des patients atteints de carcinome gastrique ou de carcinome ovarien de type mucineux.

Résumé et explication du test

En 1981, Colcher et collaborateurs ont préparé l'anticorps monoclonal B 72.3 après immunisation de souris par une fraction de métastase hépatique d'un carcinome mammaire. La glycoprotéine à haut poids moléculaire (PM 220.000 à 1.000.000) détectable par l'anticorps B 72.3 et qui fait partie du groupe des mucines a été baptisée TAG 72. Le second anticorps monoclonal cc49, doté d'une affinité 5 à 10 fois supérieure, a été obtenu contre la TAG 72 hautement purifiée. Les deux anticorps reconnaissent différents épitopes oligosaccharidiques de TAG 72.

La détection histologique de l'antigène tumoral TAG 72 est possible à la surface des cellules néoplasiques du sein, du poumon, du côlon, de l'estomac et des ovaires. Les autres tumeurs malignes et bénignes, ainsi que les tissus sains matures, ne présentent aucune réaction avec les anticorps anti-TAG 72. L'unique exception est l'endomètre sécrétoire.

Principes de la procédure

Dosage radio-immunométrique à deux sites (principe du sandwich) utilisant deux anticorps monoclonaux hautement spécifiques. L'anticorps monoclonal cc49 est utilisé pour l'enrobage de la phase solide (tube enduit) et l'anticorps monoclonal B 72.3 pour le traceur.

Au cours de la première incubation, le CA 72-4 présent dans les échantillons des patients et dans les étalons est lié par l'anticorps immobilisé sur les parois du tube à essai. Le matériau non lié est éliminé par une étape de lavage.

Au cours de la seconde incubation, l'anticorps traceur réagit avec le CA 72-4 déjà lié. Après élimination de l'excès de traceur par une seconde étape de lavage, on mesure la radioactivité liée aux parois du tube dans un compteur à scintillation gamma.

CONTENU Matériel fourni

Déterminations	**50**
^{125}I-anti-CA 72-4, monoclonal (souris), rouge Teneur en radioactivité (kBq / µCi)	11 mL < 222 /6
5 étalons A-E (0,8 mL) dans de la sérumalbumine humaine (pour la concentration, voir le rapport de Contrôle qualité)	1 trousse
Tampon de dosage, bleu	6 mL
Diluant (0 U/mL) dans la sérumalbumine humaine	6 mL
Tubes de test, enduits d'anti-CA 72-4, monoclonal (souris)	50
Contrôle, humain, lyophilisé (pour la concentration, voir l'étiquette du flacon)	1 mL

CA 72-4® est un nom déposé de Fujirebio Diagnostics Inc.

Matériel requis mais non fourni

- Micropipettes (100 µL, 200 µL, 1000 µL) avec embouts en plastique jetables
- Agitateur-mélangeur Vortex
- Système de lavage manuel ou automatique avec dispositif d'aspiration
- Mélangeur horizontal
- Compteur à scintillation gamma
- On peut également utiliser un système d'analyseur approprié si l'on dispose d'un tel système
- Tubes en polystyrène non enduits pour la dilution des sérums et contrôles
- Eau purifiée

Réactifs contenant de l'iode 125

Cette trousse contient un produit radioactif qui ne dépasse pas 6,04 µCi (224 kBq) d'iode-125. Les précautions appropriées et les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées lors de la conservation, de la manipulation et de l'élimination de ce produit.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence générale :

Ce produit radioactif peut être reçu, réceptionné, détenu et utilisé uniquement par des médecins, des laboratoires cliniques, des hôpitaux, des vétérinaires et uniquement pour des analyses cliniques ou de laboratoire in vitro n'impliquant pas l'administration interne ou externe du produit, ni par rayonnement, à l'homme ou à l'animal. Sa réception, son acquisition, sa détention, son utilisation et son transfert sont soumis aux réglementations et à la licence générale de l'U.S. Nuclear Regulatory Commission ou de l'état avec lequel la Commission a conclu un accord pour l'exercice de l'autorité réglementaire.

1. Le produit radioactif doit être conservé à un endroit désigné.
2. L'accès aux produits radioactifs doit être limité au personnel autorisé uniquement.
3. Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
4. Ne pas manger, ni boire dans les zones de travail radioactives.
5. En cas de déversement de produits radioactifs dans une zone, nettoyer la zone, puis la laver à l'aide d'un produit détergent à base d'alcali ou d'une solution de décontamination radiologique. Tout article de verre utilisé doit être entièrement lavé à l'eau avant de laver les autres articles de verre du laboratoire.

Pour les praticiens ou les établissements recevant des radio-isotopes dans le cadre d'une licence spécifique :

La réception, l'utilisation, le transfert et la mise au rebut de produits radioactifs sont sujets aux réglementations et conditions de votre licence spécifique.

AVERTISSEMENT : Ce produit contient un produit chimique connu dans l'État de Californie comme étant cancérigène.

ATTENTION : La radioactivité imprimée sur la notice d'utilisation peut être légèrement différente de celle qui est imprimée sur l'étiquette de la boîte et sur l'étiquette du flacon du traceur. Les étiquettes de la boîte et du flacon du traceur indiquent la dose réelle de radioactivité à la date de calibrage, alors que la notice d'utilisation indique la radioactivité théorique de la trousse.

Réactifs contenant de l'azide de sodium

ATTENTION : Certains réactifs de cette trousse contiennent de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb ou en cuivre et former des azotures ultra-explosifs. Pour leur élimination, rincer à grande eau pour empêcher l'accumulation d'azide. Pour plus d'informations, consulter "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts" , dans le manuel Guide-Safety Management n° CDC-22 publié par les Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Préparation des réactifs

Laisser tous les composants du test atteindre la température ambiante (18–25°C) avant le test et bien mélanger **(Éviter la formation de mousse).**

Le contrôle doit être ouvert avec précaution (sous vide) et reconstitué avec 1 mL d'eau purifiée. Éviter d'agiter violemment lors de la dissolution (formation de mousse). Veiller à ce que le produit lyophilisé qui adhère au bouchon à visser soit également dissous.

Stockage des réactifs

Contrôle reconstitué : 1 semaine à 2–8°C ou 4 semaines à –20°C.

Conserver tous les réactifs à 2–8°C jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette.

- Conserver à l'endroit.

- Protéger de la lumière directe.

Prélèvement des échantillons, matériel et stockage

- Prélever les échantillons selon les procédures standard.
- Type d'échantillons: sérum; les perturbations associées au plasma ne sont pas connues.
- Stockage à 2–8°C: 24 heures
- Pour des périodes de conservation plus longues, congeler les échantillons au-dessous de –20°C.
- Les échantillons congelés ne peuvent être décongelés qu'une seule fois.
- Les échantillons conservés doivent être soigneusement mélangés avant utilisation (agitateur-mélangeur Vortex).
- Ne pas utiliser des échantillons agglutinés, lipémiques, hémolysés, ictériques ou contaminés.

Substances interférentes

Aucune interférence avec les résultats du test n'a été observée pour des concentrations de bilirubine < 0,125 mg/mL, d'hémoglobine < 500 mg/dL ou de triglycérides < 12,5 mg/mL.

Remarques concernant la procédure

- Les composants individuels de chaque trousse sont parfaitement appariés. En cas d'échange ou de mélange des composants de différents lots, le fabricant ne garantit pas la fiabilité des résultats.
- Respecter scrupuleusement la séquence des étapes de pipetage.
- Régler le temps de mesure du compteur gamme de manière à ce que le comptage s'effectue pendant au moins 1 minute.
- Ne pas utiliser cette trousse au-delà de la date de péremption figurant sur l'étiquette.
- Respecter les directives de contrôle qualité à l'usage des laboratoires médicaux.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs.

Procédure de test

Il est conseillé d'analyser les étalons et les échantillons en double.

Si l'on s'attend à des valeurs supérieures à la concentration de l'étalon le plus haut, diluer les échantillons avec le diluant (en utilisant par exemple des facteurs de dilution de 10, 100, 1000).

Plutôt que de réaliser et d'évaluer manuellement le dosage, on peut également utiliser un système d'analyseur automatisé, cela sous la responsabilité du laboratoire.

1. Pipeter 100 µL de tampon de dosage dans tous les tubes.
2. Pipeter 100 µL d'étalon, de contrôle ou d'échantillon de patient, mélanger (agitateur-mélangeur Vortex) et couvrir d'une feuille de plastique.
3. Incuber les tubes pendant 4 heures (± 5 min) à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur horizontal.*
4. Aspirer le liquide.
5. Laver tous les tubes 3 fois avec 2 mL d'eau purifiée.
6. Ajouter 200 µL de ^{125}I-anti-CA 72-4, mélanger au vortex.
7. Incuber pendant 18 à 20 heures à 6°C (± 2°).
8. Aspirer le liquide.
9. Laver tous les tubes 3 fois avec 2 mL d'eau purifiée.
10. Mesurer la radioactivité (CPM) de tous les tubes (pendant au moins 1 minute).

100 µL	Pipeter le tampon de dosage
100 µL	Ajouter l'étalon, le contrôle ou l'échantillon du patient
	Mélanger
4 heures (± 5 min)	Incuber à température ambiante (18–25°C) sur un mélangeur*
	Aspirer
3 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée
200 µL	Ajouter le ^{125}I-anti-CA 72-4
	Mélanger
18-20 heures	Incuber debout à 6°C (± 2°C)
	Aspirer
3 x 2 mL	Laver avec de l'eau purifiée
1 min	Mesurer (compteur à scintillation gamma)

*** Conserver des conditions d'agitation constantes!**
Optimum :
Amplitude 20 mm = 150 rpm
Amplitude 10 mm = 220 rpm
Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Calcul des résultats

On peut tracer la courbe d'étalonnage manuellement en procédant comme suit :

1. Déterminer les CPM moyens pour chaque paire de tubes analysés en double.
2. Diviser les CPM moyens de chaque étalon (B) par les CPM moyens de l'étalon le plus élevé (B_{max}) et multiplier par 100 pour obtenir le pourcentage de liaison relative (%B/B_{max}) pour chaque étalon.
3. Sur papier semi-logarithmique, reporter les liaisons relatives de chaque étalon (%B/B_{max}) sur l'axe Y et les concentrations correspondantes (U/mL) sur l'axe X.
4. Lire les concentrations des échantillons (U/mL) directement sur la courbe d'étalonnage à partir de la liaison relative correspondante (%B/B_{max}).

Les échantillons pour lesquels la radioactivité mesurée dépasse celle de l'étalon le plus élevé doivent être dilués avec le diluant de la trousse et dosés à nouveau. Pour déterminer la concentration finale de ces échantillons, il est nécessaire de tenir compte du facteur de dilution utilisé.

Le calcul automatique des valeurs radio-immunologiques mesurées s'effectue au moyen d'une approximation utilisant une courbe cubique.

Contrôle de qualité

Respecter les directives de contrôle de qualité à l'usage des laboratoires médicaux.

Il convient de contrôler la validité et la précision des résultats au moyen de sérums de contrôle ou de pools de sérums préparés par le laboratoire.

Le contrôle inclus dans la trousse convient parfaitement pour le contrôle de qualité interne au sein du laboratoire.

Ce contrôle doit être analysé en même temps que chaque série de tests et traité de la même manière que les échantillons de patients. La plage de contrôle attendue figure sur l'étiquette correspondante.

Valeurs escomptées

Les sérums de donneurs de sang manifestement en bonne santé (n=100) ont fourni des valeurs de CA 72-4 pouvant atteindre jusqu'à 4 U/mL (percentile 95).

Comme les valeurs de CA 72-4 sont susceptibles de varier en fonction de la méthode utilisée par le laboratoire, chaque laboratoire doit établir sa propre plage de valeurs de référence.

Limites du dosage

Les patients atteints de pathologies malignes peuvent présenter des valeurs du dosage CA 72-4 se situant dans la plage des valeurs normales. On peut observer des valeurs élevées de CA 72-4 chez des patients atteints de pathologies bénignes tels qu'insuffisance hépatique chronique ou tumeurs bénignes de l'ovaire. Par conséquent, les concentrations sériques de CA 72-4 ne constituent pas une preuve de la présence ou de l'absence d'une pathologie maligne. Ces résultats doivent être interprétés dans le contexte en tenant compte du tableau clinique et des autres procédures diagnostiques. Le dosage de CA 72-4 ne peut en aucun cas être utilisé comme unique critère pour le dépistage du cancer. Des concentrations élevées de CA 72-4 peuvent également être présentes chez les patients atteints de carcinome du poumon non à petites cellules.

Anticorps humains anti-souris

Les échantillons de patients contenant des anticorps humains anti-souris (HAMA) risquent de fournir des résultats faussement élevés ou bas. Bien que des agents neutralisant les anticorps humains anti-souris aient été ajoutés au test, des concentrations sériques extrêmement élevées d'anticorps humains anti-souris peuvent occasionnellement influencer les résultats. De tels échantillons ne doivent pas être utilisés pour le dosage CA 72-4 IRMA.

Données analytiques

Étalonnage

Le test été étalonné au moyen du dosage IRMA CA 72-4® de Fujirebio.

Plage de mesure

La trousse CA 72-4 IRMA mesure des concentrations se situant entre 3 et 100 U/mL.

Infléchissement pour des doses élevées

Aucun effet d'infléchissement pour des doses élevées n'a été observé pour des concentrations de CA 72-4 allant jusqu'à 1250 U/mL.

Précision

Variation intra-essai Valeur moyenne (U/mL)	CV (%)	n=	Variation entre les essais Valeur moyenne (U/mL)	CV (%)	n=
9,1	3,0	3	9,4	14,0	7
24,9	2,5	3	25,3	8,2	7
71,2	1,4	3	68,1	5,4	7

Spécificité

La trousse de dosage CA 72-4 IRMA utilise les anticorps monoclonaux B 72.3 et cc49. Ces anticorps ne peuvent être obtenus qu'auprès de Fujirebio, de ses concessionnaires de licence et de ses représentants. Des informations sur la spécificité des anticorps sont publiées dans la littérature (1-5).

Linéarité après dilution

Un sérum de patient a été dilué avec du diluant, puis dosé. Les valeurs mesurées ont été comparées aux valeurs attendues obtenues par régression linéaire.

Concentration originale : 42,7 U/mL

Dilution	Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
1 : 1,25	34,6	34,7	99,6
1 : 1,7	27,2	25,6	102,6
1 : 2,5	18,3	18,4	99,4

Récupération

Un sérum de patient avec une faible teneur en CA 72-4 a été dopé avec différentes quantités de CA 72-4, puis dosé.

Concentration originale : 1,9 U/mL

Valeur mesurée (U/mL)	Valeur escomptée (U/mL)	Récupération (%)
60,6	60,6	100
47,9	48,9	98
25,4	25,4	100

CA 72-4 IRMA — Gebrauchsanweisung

REF R0056 — 50 Tests — Deutsch

IVD — Nur für professionellen Gebrauch!

Verwendungszweck

In-vitro -Test zur quantitativen Bestimmung von TAG 72® (tumorassoziiertes Glykoprotein 72) in Serum während der Nachsorge bei Patienten mit Magenkarzinom oder muzinösem Ovarialkarzinom.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Im Jahre 1981 haben Colcher und seine Mitarbeiter den monoklonalen Antikörper B72.3 nach der Immunisierung von Mäusen mit einer Lebermetastase eines Brustkarzinoms hergestellt. Das hochmolekulare Glykoprotein (MW 220.000-1.000.000), das mit B 72.3 nachweisbar ist und zur Gruppe der Muzine gehört, wurde als TAG 72 bezeichnet. Der zweite monoklonale Antikörper mit der Bezeichnung cc49, der eine 5- bis 10-mal höhere Affinität aufweist, wurde gegen hoch gereinigtes TAG 72 entwickelt. Beide Antikörper erkennen verschiedene Oligosacharid-Epitope von TAG 72.

Der histologische Nachweis des tumorassoziierten Antigens TAG 72 ist bei neoplastischen Zellen von Brust, Lunge, Kolon, Magen und Ovarien möglich. Andere bös- und gutartige Tumore sowie gesunde, reife Gewebe zeigen keine Reaktion auf TAG 72-Antikörper. Die einzige Ausnahme ist das Sekretionsendometrium.

Verfahrensprinzipien

Immunoradiometrischer Two-site-Assay (Sandwich-Prinzip) mit Hilfe von zwei hoch spezifischen monoklonalen Antikörpern. Der monoklonale Antikörper cc49 wird für die Beschichtung der Festphase (beschichtetes Röhrchen) verwendet, während der monoklonale Antikörper B 72.3 für den Tracer verwendet wird.

Während der ersten Inkubation wird das in Patientenproben und Kalibratoren vorhandene CA 72-4 an den an der Wand des Teströhrchens immobilisierten Antikörper gebunden. Ungebundenes Material wird durch einen Spülschritt entfernt.

Während der zweiten Inkubation reagiert der Tracer-Antikörper mit dem bereits gebundenen CA 72-4. Nachdem der überschüssige Tracer durch einen zweiten Spülschritt entfernt wurde, wird die an der Röhrchenwand verbleibende Radioaktivität in einem Gammaszintillationszähler gemessen.

INHALT Im Lieferumfang enthaltenes Material

Bestimmungen	**50**
^{125}I-anti-CA 72-4, monoklonal (Maus), rot Gehalt an Radioaktivität (kBq/µCi)	11 mL < 222/6
5 Kalibratoren A-F (0,8 mL) in humanem Serumalbumin (Konzentration: siehe Qualitätskontrollbericht)	1 Satz
Testpuffer, blau	6 mL
Diluent (0 U/mL) in humanem Serumalbumin	6 mL
Teströhrchen, beschichtet mit anti-CA 72-4, monoklonal (Maus)	50
Kontrolle, human, lyophil (Konzentration: siehe Fläschchenetikett)	1 mL

CA 72-4® ist ein eingetragenes Warenzeichen von Fujirebio Diagnostics Inc.

Zusätzlich benötigte Materialien

- Mikropipetten (100 µL, 200 µL und 1000 µL) mit Einweg-Kunststoffspitzen
- Vortex-Mixer
- Manueller oder automatischer Wäscher mit Aspirationsvorrichtung
- Horizontaler Schüttler
- Gammaszintillationszähler
- Alternativ ein geeignetes automatisiertes Analysatorsystem (falls verfügbar)
- Unbeschichtete Polystyrol-Röhrchen für die Verdünnung von Seren und Kontrollen
- Destilliertes Wasser

Reagenzien mit Jod-125

Dieses Kit enthält radioaktives Material mit maximal 6,04 µCi (224 kBq) Jod-125. Bei der Lagerung, Handhabung und Entsorgung dieses Materials sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen und gute Laborpraktiken einzuhalten.

Für Ärzte bzw. Institutionen, die im Rahmen einer General lizenz Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Dieses radioaktive Material darf nur von Ärzten, veterinärmedizinisch tätigen Tierärzten, klinischen Laboren oder Krankenhäusern und nur für klinische In-vitro-Tests oder In-vitro-Labortests, bei denen das Material oder dessen Strahlung keinen Menschen oder Tieren intern oder extern verabreicht wird, empfangen, erworben, besessen und verwendet werden. Entgegennahme, Erwerb, Besitz, Verwendung und Weitergabe des Materials unterliegen den Vorschriften und der Generallizenz der US. Nuclear Regulatory Commission bzw. des Staates, mit dem diese Behörde ein Abkommen zur Ausübung ihrer Überwachungsfunktion abgeschlossen hat.

1. Die Lagerung des radioaktiven Materials ist auf einen speziell dafür bestimmten Bereich zu beschränken.
2. Der Zugang zu radioaktivem Material ist nur befugten Personen zu gestatten.
3. Radioaktives Material nicht mit dem Mund pipettieren.
4. Im vorgesehenen radioaktiven Arbeitsbereich nicht essen oder trinken.
5. Verschüttetes Material aufwischen und Bereich anschließend mit alkalischem Reinigungsmittel oder radiologischer Dekontaminationslösung waschen. Alle benutzten Glasbehälter gründlichst mit Wasser spülen, bevor sie zusammen mit anderen Laborbehältern aus Glas ausgewaschen werden.

Für Ärzte oder Einrichtungen, die im Rahmen einer Sondergenehmigung Radioisotope erhalten, gilt Folgendes:

Entgegennahme, Gebrauch, Weitergabe und Entsorgung radioaktiven Materials unterliegen den Vorschriften und Bedingungen der jeweiligen Sondergenehmigung.

WARNHINWEIS: Dieses Produkt enthält eine Chemikalie, die nach Angaben des US-Bundesstaates Kalifornien krebserregend ist.

WICHTIGER HINWEIS: Die auf der Packungsbeilage angegebene Radioaktivität kann von der auf dem Etikett des Kartons und des Tracer-Fläschchens angegebenen etwas abweichen. Sowohl das Etikett des Kartons als auch das Etikett des Tracer-Fläschchens geben den tatsächlichen Wert der Radioaktivität am Kalibrationsdatum an, während die Packungsbeilage die theoretische Radioaktivität des Kits angibt.

Reagenzien mit Natriumazid

VORSICHT: Einige Reagenzien in diesem Kit enthalten Natriumazid, das ggf. mit Blei- oder Kupferleitungen reagieren und höchst explosive Metallazide bilden kann. Zur Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen, um Azidbildung zu vermeiden. Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts" des Handbuches Safety Management Nr. CDC-22, herausgegeben vom Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, 1976.

Vorbereitung der Reagenzien

Die Testkomponenten vor dem Testen auf Raumtemperatur (18–25°C) bringen und gründlich mischen. **(Schaumbildung vermeiden.)**

Die Kontrolle muss vorsichtig geöffnet werden (Vakuum) und mit 1 mL destilliertem Wasser rekonstituiert werden. Beim Auflösen starkes Schütteln vermeiden (Schaumbildung). Sicherstellen, dass am Schraubdeckel haftendes lyophilisiertes Material ebenfalls gelöst wird.

Lagerung der Reagenzien

Rekonstituierte Kontrolle: 1 Woche bei 2–8°C oder 4 Wochen bei –20°C.

Alle Reagenzien bei 2–8°C bis zu dem auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum lagern.

- Reagenzien aufrecht lagern

- Reagenzien aus direktem Licht fernhalten

Probengewinnung, -material und -lagerung

- Proben mit Hilfe von Standardverfahren gewinnen
- Probenmaterial: Serum; Störungen durch Plasma sind nicht bekannt.
- Lagerung bei 2–8°C: 24 Stunden
- Zur längeren Lagerung die Proben auf Temperaturen von unter -20°C einfrieren
- Gefrorene Proben dürfen nur einmal aufgetaut werden
- Gelagerte Proben müssen vor dem Gebrauch gründlich gemischt werden (Vortex-Mixer)
- Keine agglutinierten, lipämischen, hämolytischen, ikterischen oder kontaminierten Proben verwenden

Störende Substanzen

Bei Bilirubin-Konzentrationen von < 0,125 mg/mL, Hämoglobin-Konzentrationen von < 500 mg/dL bzw. Triglycerid-Konzentrationen von < 12,5 mg/mL wird keine Beeinträchtigung der Testergebnisse beobachtet.

Anmerkungen zum Verfahren

- Die einzelnen Komponenten jedes Kits sind sorgfältig aufeinander abgestimmt. Wenn Komponenten aus verschiedenen Chargen ausgetauscht oder vermischt werden, garantiert der Hersteller keine zuverlässigen Ergebnisse.
- Die Reihenfolge der Pipettierschritte strikt einhalten
- Die Messzeit am Gammazähler muss auf eine mindestens 1-minütige Zählung eingestellt werden
- Dieses Testkit darf nach dem auf dem Packungsetikett angegebenen Verfallsdatum nicht verwendet werden
- Die Qualitätskontrollrichtlinien für medizinische Labors einhalten
- Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden

Testverfahren

Es wird empfohlen, Kalibratoren und Proben in doppelter Ausfertigung zu testen.

Wenn Werte oberhalb der höchsten Kalibratorkonzentration erwartet werden, müssen die Proben weiter mit dem Diluent verdünnt werden (z. B. mit den Faktoren 10, 100 und 1000).

Als Alternative zur manuellen Durchführung und Auswertung kann auf Verantwortung des Labors ein geeignetes automatisiertes Analysatorsystem verwendet werden.

1. 100 µL Testpuffer in alle Röhrchen pipettieren.

2. Jeweils 100 µL Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe pipettieren, mischen (vortexen) und Röhrchen mit Kunststofffolie abdecken.

3. 4 Stunden (± 5 Min.) bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem horizontalen Schüttler inkubieren.*

4. Die Flüssigkeit aspirieren.

5. Alle Röhrchen dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.

6. 200 µL ^{125}I-anti-CA 72-4 hinzugeben und vortexen.

7. 18-20 Stunden bei 6°C (± 2°) inkubieren.

8. Die Flüssigkeit aspirieren.

9. Alle Röhrchen dreimal mit 2 mL destilliertem Wasser spülen.

10. Die Radioaktivität (CPM) in allen Röhrchen messen (mindestens 1 Min.).

100 µL	Testpuffer pipettieren
100 µL	Kalibrator, Kontrolle bzw. Patientenprobe hinzugeben
	Mischen
4 Std. (± 5 min)	Bei Raumtemperatur (18–25°C) auf einem Schüttler inkubieren*
	Aspirieren
3 x 2 mL	Mit destilliertem Wasser spülen
200 µL	Add ^{125}I-anti-CA 72-4
	Mischen
18-20 Std.	Stehend bei 6°C (± 2°C) inkubieren
	Aspirieren
3 x 2 mL	Mit destilliertem Wasser spülen
1 Min.	Messen (Gammaszintillationszähler)

*** Die Schüttelbedingungen konstant halten!**
Optimum:
Amplitude 20 mm = 150 rpm
Amplitude 10 mm = 220 rpm
Amplitude < 8 mm = 300 rpm

Ergebnisberechnung

Die Eichkurve wird folgendermaßen manuell erstellt:

1. Den mittleren CPM-Wert für jedes Paar von doppelten Röhrchen bestimmen.
2. Den mittleren CPM-Wert der einzelnen Kalibratoren (B) durch den mittleren CPM-Wert des höchsten Kalibrators (B_{max}) dividieren und mit dem Faktor 100 multiplizieren, um den Prozentsatz der relativen Bindung (%B/B_{max}) für die einzelnen Kalibratoren zu erhalten.
3. Auf halblogarithmischem Papier die relativen Bindungen der einzelnen Kalibratoren (%B/B_{max}) auf der Y-Achse gegen die entsprechenden Konzentrationen auf der X-Achse auftragen.
4. Die Probenkonzentrationen (U/mL) in der Eichkurve direkt aus den entsprechenden relativen Bindungen (%B/B_{max}) ablesen.

Proben mit Ergebnissen über dem höchsten Kalibrator müssen mit dem Kit-Diluent verdünnt und erneut getestet werden. Für die Endkonzentration dieser Proben muss der entsprechende Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden.

Die instrumentelle Berechnung von radioimmunologischen Messwerten basiert auf einer Spline-Approximation.

Qualitätskontrolle

Die Qualitätskontrollrichtlinien für medizinische Labors müssen eingehalten werden.

Die Gültigkeit und Präzision der Ergebnisse sollte mit vom Labor erstellten Kontroll- oder Poolseren kontrolliert werden.

Die in dem Kit enthaltene Kontrolle ist gut für die laborinterne Qualitätskontrolle geeignet.

Diese Kontrolle sollte gleichzeitig mit jedem Testdurchgang getestet und wie Patientenproben behandelt werden. Der erwartete Kontrollbereich ist auf dem Etikett der Kontrolle aufgedruckt.

Erwartete Werte

Seren von offensichtlich gesunden Blutspendern (n=100) weisen CA 72-4-Werte von bis zu ca. 4 U/mL auf (95 Perzentil).

Da CA 72-4-Werte je nach dem angewendeten Laborverfahren unterschiedlich sein können, sollte jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich festlegen.

Grenzen des Verfahrens

Patienten mit Malignitäten weisen möglicherweise CA 72-4-Testwerte innerhalb des Normalbereichs auf. Erhöhte CA 72-4-Werte werden möglicherweise bei Patienten mit gutartigen Erkrankungen wie chronischer Leberstörung oder gutartigen Ovarialtumoren beobachtet. Daher sind CA 72-4-Serumkonzentrationen kein Nachweis für das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Malignitäten und dürfen nur im Zusammenhang mit dem klinischen Bild und anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden. Der CA 72-4-Assay sollte nicht als einziges Kriterium für Krebs-Screening verwendet werden. Erhöhte Konzentrationen von CA 72-4 können auch bei Patienten mit nichtkleinzelligem Lungenkarzinom auftreten.

HAMA

Patientenproben mit humanen Anti-Maus-Antikörpern (HAMA) können zu fälschlich erhöhten oder verringerten Werten führen. Trotz der Zugabe von HAMA-neutralisierenden Agenzien werden die Ergebnisse mitunter durch extrem hohe HAMA-Serumkonzentrationen beeinflusst. Diese Proben sollten nicht für den CA 72-4 IRMA-Assay verwendet werden.

Analysedaten

Kalibrierung

Der Test wurde anhand des CA 72-4 IRMA® -Assays von Fujirebio kalibriert.

Messbereich

Mit dem CA 72-4 IRMA werden Konzentrationen zwischen 3 und 100 U/mL gemessen.

High-dose-hook-Effekt

Für CA 72-4-Konzentrationen von bis zu 1250 U/mL wurde kein High-dose-hook-Effekt beobachtet.

Genauigkeit

Intra-Testvarianz			Inter-Testvarianz		
Mittelwert (U/mL)	VK (%)	n=	Mittelwert (U/mL)	VK (%)	n=
9,1	3,0	3	9,4	14,0	7
24,9	2,5	3	25,3	8,2	7
71,2	1,4	3	68,1	5,4	7

Spezifität

Beim CA 72-4 IRMA -Assay werden die monoklonalen Antikörper B 72.3 und cc49 verwendet. Diese Antikörper sind nur bei Fujirebio sowie bei dessen Lizenznehmern und Vertretern erhältlich. Die Spezifität der Antikörper ist in der entsprechenden Literatur (1-5) beschrieben.

Verdünnungslinearität

Ein Patientenserum wurde mit Diluent verdünnt und anschließend gemessen. Die gemessenen Werte wurden mit Erwartungswerten verglichen, die aus einer linearen Regression erhalten wurden.

Ursprüngliche Konzentration: 42,7 U/mL

Verdünnung	Messwert (U/mL)	Erwartungswert (U/mL)	Wiederfindung (%)
1:1,25	34,6	34,7	99,6
1:1,7	27,2	25,6	102,6
1:2,5	18,3	18,4	99,4

Wiederfindung

Ein Patientenserum mit geringem CA 72-4-Gehalt wurde mit verschiedenen Mengen von CA 72-4 versetzt und anschließend gemessen.

Ursprüngliche Konzentration: 1,9 U/mL

Messwert (U/mL)	Valeur escomptée U/mL)	Wiederfindung (%)
60,6	60,6	100
47,9	48,9	98
25,4	25,4	100

IRMA para CA 72-4 Instrucciones de uso

REF R0056 50 ensayos Español

IVD Sólo para uso profesional

Indicaciones

Prueba *in vitro* para la determinación cuantitativa de TAG 72® (glucoproteína asociada a tumores 72) en suero durante el seguimiento de pacientes con carcinoma gástrico o carcinoma ovárico de tipo mucinoso.

Resumen y explicación del ensayo

En 1981, Colcher y sus colaboradores prepararon el anticuerpo monoclonal B 72.3 tras la inmunización de ratones con una fracción de metástasis hepática de un carcinoma de mama. La glucoproteína, de alto peso molecular (PM 220.000 - 1.000.000), detectable con B 72.3 y perteneciente al grupo de mucinas, fue designada como TAG 72. El segundo anticuerpo monoclonal cc49 mostró una afinidad de 5 a 10 veces mayor en relación al altamente purificado TAG 72. Ambos anticuerpos reconocen epitopos oligosacáridos diferentes de TAG 72.

La detección histológica del antígeno asociado al tumor TAG 72 es posible en células neoplásticas de mama, pulmón, colon, estómago y ovarios. Otros tumores malignos y benignos, además de tejidos maduros sanos, no mostraron reacción alguna a los anticuerpos de TAG 72. La única excepción es el endometrio secretor.

Principios del procedimiento

Se utilizaron ensayos inmunorradiométricos de dos variaciones sitio específicas (principio de sandwich) con dos cuerpos monoclonales altamente específicos. Se utilizó el anticuerpo monoclonal cc49 para el recubimiento de la fase sólida (tubo recubierto) y el anticuerpo monoclonal B 72.3 para el trazador.

Durante la primera incubación, el CA 72-4 presente en las muestras de pacientes y en los calibradores queda unido al anticuerpo inmovilizado en la pared del tubo de ensayo. El material no unido se retira mediante un paso de lavado.

Durante la segunda incubación, el anticuerpo del trazador reacciona con el CA 72-4 que ya está unido. Tras retirar el trazador de exceso con un segundo paso de lavado, la radiactividad unida a la pared del tubo se mide con un contador de centelleo de rayos gamma.

CONTENIDO Material suministrado

Determinations	**50**
^{125}I-anti-CA 72-4, monoclonal (ratón), rojo contenido radiactivo (kBq / µCi)	11 mL < 222/6
5 calibradores A-E (0,8 mL) en albúmina de suero humano (para ver datos sobre la concentración, consulte el informe de control de calidad)	1 juego
Tampón de ensayo, azul	6 mL
Diluyente (0 U/mL) en albúmina de suero humano	6 mL
Tubos de ensayo, recubiertos de anti-CA 72-4, monoclonal (ratón)	50
Control, humano, liofílico (para ver datos sobre la concentración, consulte la etiqueta del vial)	1 mL

CA 72-4® es marca registrada de Fujirebio Diagnostics Inc.

Material necesario pero no suministrado

- Micropipetas (100 µL, 200 µL, 1000 µL) con punta de plástico desechable
- Mezclador vórtex.
- Lavador automático o manual con dispositivo de aspiración
- Agitador horizontal
- Contador de centelleo de rayos gamma
- Alternativamente, un sistema analizador automático, si está disponible
- Tubos de poliestireno no recubiertos para la dilución de los sueros y controles
- Agua purificada

Reactivos con contenido de yodo 125

Este equipo contiene material radiactivo que no excede de 6,04 µCi (224 kBq) de yodo 125. Para almacenar, manejar y desechar este material, deben adoptarse las precauciones necesarias y las prácticas de laboratorio correctas.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia genérica:

Este material radiactivo sólo deben recibirlo, adquirirlo, poseerlo y utilizarlo médicos, veterinarios que practiquen la medicina veterinaria, laboratorios clínicos u hospitales, y sólo para pruebas in vitro clínicas o de laboratorio que no conlleven la administración interna o externa del material ni su radiación a seres humanos ni animales. Su recepción, adquisición, posesión, uso y transferencia se rigen por la normativa y la licencia genérica de la Comisión Reguladora Nuclear del estado en el que la Comisión haya llegado a un acuerdo para el ejercicio de su autoridad reguladora.

1. El almacenamiento del material radiactivo debe limitarse a un área destinada específicamente a tal efecto.
2. El acceso a materiales radiactivos debe estar limitado únicamente al personal autorizado.
3. No recoja material radiactivo con la pipeta usando la boca.
4. No coma ni beba dentro de las áreas destinadas a trabajos radiactivos.
5. Las áreas donde se produzcan derrames deben limpiarse y después lavarse con un detergente alcalino o una solución descontaminante radiológica. Todo recipiente de vidrio utilizado debe enjuagarse completamente con agua antes de lavarse con otros recipientes de laboratorio.

Para facultativos o instituciones que reciben radioisótopos con licencia específica:

La recepción, uso, transferencia y eliminación de los materiales radiactivos se rigen por la normativa y las condiciones de la licencia en cuestión.

ADVERTENCIA: este producto contiene una sustancia química conocida por el Estado de California como causante de cáncer.

ATENCIÓN: la radiactividad impresa en el interior del paquete puede diferir ligeramente de la impresa en la etiqueta de la caja y en la del vial del trazador. La etiqueta de la caja y la del trazador indican la cantidad real de radiactividad en la fecha de la calibración, mientras que el prospecto del paquete indica la radiactividad teórica del equipo.

Reactivos con contenido de azida sódica

PRECAUCIÓN: algunos reactivos de este equipo contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre y formar azidas metálicas altamente explosivas. Antes de desecharlos, enjuáguelos con abundante agua para impedir la acumulación de azidas. Para obtener más información, consulte “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts” en Manual Guide-Safety Management nº CDC-22, publicado por Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Preparación de los reactivos

Antes de utilizar los componentes del ensayo, deje que alcancen la temperatura ambiente (18–25°C) y mézclelos bien. **(No permita que se forme espuma).**

Abra cuidadosamente (en vacío) cada control y reconstitúyalo con 1 mL de agua purificada. No agite los controles con fuerza al disolverlos **(evite la formación de espuma)**. Asegúrese de que se disuelve también el material adherido al tapón de rosca.

Almacenamiento de los reactivos

Control reconstituido: 1 semana a 2–8°C o 4 semanas a –20°C.

Almacene todos los reactivos a 2–8°C hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del paquete.

- **Manténgalos en posición vertical durante el almacenamiento.**
- **Manténgalos alejados de la luz directa.**

Recogida de muestras, material y almacenamiento

- Las muestras deben recogerse mediante los procedimientos estándar.
- Material de muestra: suero; no se conocen alteraciones debidas al plasma.
- Almacenamiento a 2–8°C: 24 horas
- Para periodos de almacenamiento más prolongados, congele las muestras por debajo de –20°C
- Las muestras no deben congelarse y descongelarse más de una vez.
- Las muestras almacenadas deben mezclarse cuidadosamente antes de su uso (en un mezclador vórtex).
- Evite el uso de muestras aglutinadas, lipémicas, hemolíticas, ictéricas o contaminadas.

Sustancias interferentes

No se han observado interferencias en los resultados de las pruebas con concentraciones de < 0,125 mg/mL de bilirrubina, < 500 mg/dL de hemoglobina o < 12,5 mg/mL de triglicéridos.

Notas al procedimiento

- Cada componente del equipo de ensayo ha sido elegido cuidadosamente para verificar su coincidencia. El fabricante no garantiza la fiabilidad de los resultados si se intercambia o se mezcla un componente cualquiera con otro de un lote distinto.
- Siga rigurosamente la secuencia de pasos para la dosificación con pipeta.
- El tiempo de medición del contador de rayos gamma debe ajustarse a 1 minuto como mínimo.
- Este equipo de ensayo no debe utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del paquete.
- Siga rigurosamente las directrices de control de calidad de los laboratorios médicos.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos.

Procedimiento del ensayo

Se recomienda realizar ensayos de calibradores y muestras por duplicado.

Si se esperan valores por encima de los valores más altos del calibrador, es aconsejable diluir más las muestras con el diluyente (por ejemplo, con factores de dilución 10, 100, 1000).

Como método alternativo para la obtención manual del resultado y su evaluación, se puede utilizar también un sistema de analizador automático apropiado bajo la responsabilidad del laboratorio.

1. Dosifique con pipeta 100 µL de tampón de ensayo en todos los tubos.

2. Dosifique con pipeta 100 µL en cada calibrador, control o muestra de paciente, mezcle (en un mezclador vórtex) y cubra con una lámina de plástico.

3. Incube durante 4 horas (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador horizontal.*

4. Aspire el líquido.
5. Lave todos los tubos 3 veces con 2 mL de agua purificada.
6. Agregue 200 µL de ^{125}I-anti-CA 72-4, y mezcle en vórtex.
7. Incube durante 18–20 horas a 6°C (± 2°C).
8. Aspire el líquido.
9. Lave todos los tubos 3 veces con 2 mL de agua purificada.
10. Mida la radiactividad (CPM) de todos los tubos (durante 1 minuto como mínimo).

100 µL	Dosifique con pipeta el tampón de ensayo
100 µL	Agregue calibrador, control o muestra de paciente
	Mezcle
4 horas (± 5 min)	Incube a temperatura ambiente (18–25°C) en un agitador*
	Aspire
3 x 2 mL	Lave con agua purificada
200 µL	Agregue ^{125}I-anti-CA 72-4
	Mezcle
18-20 h	Incube en posición vertical a 6°C (± 2°C)
	Aspire
3 x 2 mL	Lave con agua purificada
1 min	Mida (con un contador de centelleo de rayos gamma)

*** ¡Mantenga constantes las condiciones de agitación!**
Valores óptimos:
Amplitud 20 mm = 150 rpm
Amplitud 10 mm = 220 rpm
Amplitud < 8 mm = 300 rpm

Cálculo de resultados

La curva de calibración se puede establecer manualmente con el procedimiento descrito a continuación:

1. Determine la media de CPM de cada par de tubos duplicados.
2. Divida la media de CPM de cada calibrador (B) por la media de CPM del calibrador más alto ($B_{máx}$) y multiplique por 100 para obtener el porcentaje de unión relativa (% $B/B_{máx}$) de cada calibrador.
3. En un papel milimetrado semilogarítmico, trace las uniones relativas de cada calibrador (% $B/B_{máx}$) en el eje Y frente a las concentraciones correspondientes (U/mL) en el eje X.
4. Las concentraciones de las muestras (U/mL) se pueden leer directamente en la curva de calibración a partir de sus uniones relativas correspondientes (% $B/B_{máx}$).

Las muestras cuyo recuento sea superior a la concentración del calibrador más alto deberán diluirse con el diluyente y ser sometidas a ensayo de nuevo. Para la concentración final de dichas muestras deberá considerarse el factor de dilución apropiado.

El cálculo instrumental de los valores radioinmunológicos medidos se basa en una aproximación spline.

Control de calidad

Siga rigurosamente las directrices de control de calidad de los laboratorios médicos.

Se deberá comprobar la validez y la precisión de los resultados mediante sueros de control o pool de sueros preparados por el laboratorio.

El control incluido en este equipo resulta muy adecuado para realizar el control de calidad interno de cada laboratorio.

Este control debe comprobarse simultáneamente con cada serie de ensayos y tratarse como las muestras de paciente. El rango de control previsto aparece impreso en la etiqueta del control.

Valores previstos

Los sueros de donantes aparentemente sanos (n = 100) muestran valores aproximados de CA 72-4 de hasta 4 U/mL (95° percentil).

Dado que los valores de CA 72-4 pueden variar en función del método de laboratorio utilizado, cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia.

Limitaciones del procedimiento

Los pacientes con diagnóstico de malignidad pueden mostrar valores de CA 72-4 dentro del rango normal. Se pueden observar valores elevados de CA 72-4 en pacientes con dolencias benignas, como trastornos crónicos de hígado o tumores ováricos benignos. Por lo tanto, los valores de CA 72-4 en suero no prueban la presencia o ausencia de malignidad, y sólo pueden ser interpretados en su contexto junto con imágenes clínicas y otros procedimientos de diagnóstico. No debe utilizarse el ensayo para CA 72-4 como criterio único para la detección de cáncer. Las concentraciones elevadas de CA 72-4 pueden encontrarse también en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico.

HAMA

Las muestras de paciente que contengan anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA) pueden conducir a valores erróneamente elevados o reducidos. Aunque el ensayo lleva añadidos activos neutralizantes de HAMA es posible obtener ocasionalmente concentraciones extremadamente elevadas de HAMA en suero. Dichas muestras no deberán utilizarse con el CA 72-4 IRMA.

Datos analíticos

Calibración

Para calibrar el IRMA para CA 72-4® se ha utilizado el método de ensayo de Fujirebio.

Rango de medición

El CA 72-4 IRMA mide concentraciones entre 3 y 100 U/mL.

Efecto de gancho a concentraciones altas

No se ha observado efecto de gancho de CA 72-4 para concentraciones de hasta 1250 U/mL.

Precisión

Variación intra - ensaayo			Variación inter - ensaayo		
Valor de la media (U/mL)	CV (%)	n=	Valor de la media (U/mL)	CV (%)	n=
9,1	3,0	3	9,4	14,0	7
24,9	2,5	3	25,3	8,2	7
71,2	1,4	3	68,1	5,4	7

Especificidad

El ensayo CA 72-4 IRMA utiliza anticuerpos monoclonales B 72.3 y cc49. Estos sólo se encuentran disponibles en Fujirebio, sus materiales y representantes autorizados. La información acerca de la especificidad de los anticuerpos se describe en la literatura respectiva (1-5).

Linealidad sobre dilución

El suero de paciente se diluyó con diluyente y se midió a continuación. Los valores medidos se compararon con los valores previstos obtenidos de la regresión lineal.

Concentración original: 42,7 U/mL

Dilución	Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
1 : 1,25	34,6	34,7	99,6
1 : 1,7	27,2	25,6	102,6
1 : 2,5	18,3	18,4	99,4

Recuperación

Se inyectó suero de paciente con bajo contenido de CA 72-4 en distintas cantidades de CA 72-4 y se midió a continuación.

Concentración original: 1,9 U/mL

Valor medido (U/mL)	Valor previsto (U/mL)	Recuperación (%)
60,6	60,6	100
47,9	48,9	98
25,4	25,4	100

CA 72-4 IRMA — Istruzioni per l'uso

RIF R0056 — 50 test — Italiano

IVD **Esclusivamente per uso professionale!**

Uso previsto

Analisi *in vitro* per la determinazione quantitativa di TAG 72® (glicoproteina 72 associata a tumore) nel siero per controlli clinici di routine di pazienti affetti da carcinoma gastrico o con carcinoma alle ovaie di tipo mucoso.

Sommario e spiegazione del test

Nel 1981, Colcher e i suoi collaboratori hanno preparato l'anticorpo monoclonale B 72.3 a seguito di immunizzazione di topi con frammento di metastasi al fegato di un carcinoma mammario.
La glicoproteina altamente molecolare (MW 220.000 – 1.000.000) localizzabile con B 72.3 e appartenente al gruppo di mucine, è stata denominata TAG 72. Il secondo anticorpo monoclonale cc49 con affinità superiore da 5 a 10 volte è stato ottenuto con TAG 72 altamente purificato.

Entrambi gli anticorpi individuano diversi epitopi oligosaccaridi di TAG 72.

La localizzazione istologica dell'antigene TAG 72 associato a tumore è possibile su cellule neoplastiche del seno, del polmone, del colon, dello stomaco e delle ovaie. Altri tumori benigni e maligni, nonché tessuti maturi sani, non presentano alcuna reazione agli anticorpi TAG 72.
La sola eccezione è l'endometrio secretore.

Principi della procedura

Analisi immunoradiometrica a due siti (principio sandwich) che utilizza due anticorpi monoclonali altamente specifici. L'anticorpo monoclonale cc49 serve per il rivestimento della fase solida (provetta rivestita), mentre l'anticorpo monoclonale B 72.3 serve per il tracciante.

Durante la prima incubazione, il CA 72-4 presente nel campioni e nei calibratori viene fissato all'anticorpo immobilizzato sulle pareti della provetta. Il materiale non legato viene rimosso mediante lavaggio.

Durante la seconda incubazione, l'anticorpo del tracciante reagisce con il CA 72-4 precedentemente fissato. Dopo la rimozione del tracciante in eccesso mediante un secondo lavaggio, la radioattività che rimane sulle pareti della provetta viene misurata con un contatore ad emissione di scintille gamma.

CONTENUTO Materiale fornito

Determinazioni	**50**
^{125}I-anti-CA 72-4, monoclonale (topo), rosso contenuto radioattivo (kBq / µCi)	11 mL < 222/6
5 calibratori A-E (0,8 mL) in sieroalbumine umane (per le concentrazioni, vedere il rapporto per il controllo di qualità)	1 serie
Buffer per analisi, blu	6 mL
Diluente (0 U/mL) in sieroalbumine umane	6 mL
Provette, rivestite con anti-CA 72-4, monoclonale (topo)	50
Controlli, umani, liofili (per le concentrazioni, vedere l'etichetta sulla fiala)	1 mL

CA 72-4® e un marchio registrato della Fujirebio Diagnostics Inc.

Materiale necessario, non fornito in dotazione

- Micropipette (100 µL, 200 µL, 1000 µL) con punte in plastica monouso
- Mixer Vortex.
- Dispositivo per il lavaggio manuale o automatico completo di aspiratore
- Agitatore orizzontale
- Contatore ad emissione di scintille gamma
- In alternativa, un adeguato sistema analizzatore automatizzato
- Provette in polistirene non rivestite per la diluizione di sieri e controlli
- Acqua purificata

Reagenti contenenti iodio-125

Questo kit contiene materiale radioattivo che non supera 6,04 µCi (224 kBq) di iodio-125. Adottare precauzioni adeguate e le buone pratiche di laboratorio per la conservazione, la manipolazione e lo smaltimento di questo materiale.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza generale:

Questo materiale radioattivo può essere consegnato, acquisito, conservato e usato unicamente da personale medico, veterinari abilitati alla pratica di medicina veterinaria, laboratori clinici o ospedali e unicamente per test in vitro clinici o di laboratorio che non prevedano la somministrazione interna o esterna del materiale, o di radiazioni da esso derivanti, su persone o animali. L'acquisto, il possesso, la conservazione, l'uso e il trasferimento sono soggetti alle norme e alla licenza generale della Nuclear Regulatory Commission statunitense o dello stato con cui la Commissione ha stipulato un accordo per l'esercizio dell'autorità normativa.

1. La conservazione del materiale radioattivo deve essere limitata ad un'area specificatamente designata.
2. L'accesso ai materiali radioattivi deve essere limitato esclusivamente al personale autorizzato.
3. Non usare la bocca per versare con la pipetta materiale radioattivo.
4. Non mangiare o bere nelle aree di lavoro designate per materiale radioattivo.
5. Le zone dove possono verificarsi perdite devono essere pulite, quindi lavate con detergente alcalino o soluzione per la decontaminazione radiologica. Tutti gli oggetti in vetro usati devono essere accuratamente risciacquati con acqua prima di lavarli con altri oggetti in vetro del laboratorio.

Per i professionisti o gli istituti che utilizzano radioisotopi con una licenza specifica:

L'acquisto, l'uso, il trasferimento e lo smaltimento di materiali radioattivi sono soggetti alle norme e alle condizioni della licenza specifica.

AVVERTENZA: questo prodotto contiene un prodotto chimico noto nello Stato della California per provocare cancro.

ATTENZIONE: la radioattività riportata sulle istruzioni allegate alla confezione può essere leggermente diversa dalla radioattività riportata sull'etichetta della scatola e sull'etichetta della fiala di tracciante. Le etichette sulla scatola e sulla fiala di tracciante indicano la quantità effettiva di radioattività alla data di calibrazione, mentre il materiale informativo della confezione indica la radioattività teorica del kit.

Reagenti contenenti sodio azide

PRECAUZIONE: alcuni reagenti di questo kit contengono sodio azide. La sodio azide può reagire con componenti in piombo o rame e formare quindi azidi metalliche altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, lavare con abbondante acqua al fine di evitare la formazione di azide. Per ulteriori informazioni, consultare "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts", nel manuale Guide-Safety Management No. CDC-22 pubblicato dai Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie di Atlanta, GA, 1976.

Preparazione dei reagenti

Lasciare che tutti i componenti raggiungano la temperatura ambiente (18–25°C) prima di eseguire il test e agitare accuratamente **(evitare la formazione di schiuma)**.

Aprire con cautela il controllo (sotto vuoto) e ricostituire con 1 mL di acqua purificata. Evitare di agitare energicamente durante lo scioglimento (formazione di schiuma). Controllare che anche il materiale liofilizzato che aderisce al tappo a vite sia disciolto.

Conservazione dei reagenti

Controllo ricostituito: 1 settimana a 2–8°C o 4 settimane a –20°C.

Conservare tutti i reagenti a 2–8°C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta della confezione.

- Durante la conservazione, tenere in posizione diritta.

- Tenere lontano dalla luce diretta.

Prelievo dei campioni, materiali e conservazione

- Prelevare i campioni secondo le procedure standard.
- Tipo di campione: siero; non sono state riferite alterazioni dovute al plasma.
- Conservazione a 2–8°C: 24 ore
- Per tempi di conservazione più lunghi, congelare a –20°C.
- I campioni congelati possono essere scongelati solo una volta.
- I campioni che sono stati conservati dovranno essere accuratamente mescolati prima dell'uso (con mixer Vortex).
- Non usare campioni agglutinati, lipemici, emolitici, itterici o contaminati.

Sostanze interferenti

Non sono state notate interferenze con i risultati dei test a concentrazioni di bilirubina < 0,125 mg/mL, emoglobina < 500 mg/dL o trigliceridi < 12,5 mg/mL.

Note sulla procedura

- I singoli componenti del kit sono accuratamente abbinati fra loro. Se i componenti vengono scambiati o sostituiti con componenti di lotti diversi, il produttore non garantisce risultati affidabili.
- Attenersi rigorosamente alla sequenza delle operazioni con pipetta.
- Il tempo di misurazione del contatore a raggi gamma deve essere regolato per un tempo di conteggio di almeno 1 minuto.
- Questo kit non deve essere usato dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta.
- Osservare le linee guida per il controllo di qualità previste per i laboratori medici.
- Evitare contaminazioni microbiche dei reagenti.

Procedura

Si consiglia la doppia determinazione dei campioni e dei calibratori.

Se si prevedono letture superiori rispetto alla concentrazione del calibratore maggiore, i campioni dovranno essere ulteriormente diluiti con il diluente (ad esempio, a fattori 10, 100, 1000).

In alternativa alle performance e alla valutazione manuale, si può utilizzare un adeguato analizzatore automatizzato su responsabilità del laboratorio.

1. Iniettare con pipetta 100 µL di buffer per analisi in tutte le provette.
2. Iniettare con pipetta 100 µL di calibratore, controllo o campione paziente, mescolare (con vortex) e coprire con pellicola.

3. Lasciare in incubazione per 4 ore (± 5 min) a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore orizzontale.*
4. Aspirare il liquido.
5. Lavare tutte le provette tre volte con 2 mL di acqua purificata.
6. Aggiungere 200 µL di ^{125}I-anti-CA 72-4, agitare con il vortex.
7. Lasciare in incubazione per 18-20 ore a 6°C (± 2°).
8. Aspirare il liquido.
9. Lavare tutte le provette tre volte con 2 mL di acqua purificata.
10. Misurare la radioattività (CPM) in tutte le provette (per almeno 1 minuto).

100 µL	Iniettare con pipetta il buffer per analisi
100 µL	Aggiungere il calibratore, il controllo o il campione paziente
	Mescolare
4 ore (± 5 min)	Lasciare in incubazione a temperatura ambiente (18–25°C) su un agitatore*
	Aspirare
3 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
200 µL	Aggiungere ^{125}I-anti-CA 72-4
	Mescolare
18-20 h	Lasciare in incubazione in posizione diritta a 6°C (± 2°C)
	Aspirare
3 x 2 mL	Lavare con acqua purificata
1 min	Misurare (con contatore ad emissione di scintille gamma)

*** Mantenere costanti le condizioni di agitazione!**
Ottimale:
Ampiezza 20 mm = 150 rpm
Ampiezza 10 mm = 220 rpm
Ampiezza < 8 mm = 300 rpm

Calcolo dei risultati

La curva di calibrazione viene stabilita manualmente come segue:

1. Stabilire il CPM medio per ogni serie di provette duplicate.
2. Dividere il CPM medio di ogni calibratore (B) per il CPM medio del calibratore maggiore (B_{max}) e moltiplicare per 100 per ottenere la percentuale del legame relativo (%B/B_{max}) per ogni calibratore.
3. Su carta millimetrata semi-logaritmica, tracciare il legame relativo di ciascun calibratore (%B/B_{max}) sull'asse Y in rapporto alle concentrazioni corrispondenti sull'asse X.
4. Leggere direttamente le concentrazioni dei campioni (U/mL) sulla curva di calibrazione in base al corrispondente legame relativo (%B/B_{max}).

I campioni con conteggi superiori alla concentrazione del calibratore massimo devono essere diluiti con il diluente fornito con il kit e sottoposti a nuova analisi. Per la concentrazione finale di tali campioni, si dovrà tenere conto del fattore di diluizione idoneo. Il calcolo strumentale dei valori radioimmunologici viene eseguito mediante approssimazione spline.

Controllo di qualità

Attenersi alle linee guida per il controllo di qualità per i laboratori medici.

La validità e la precisione dei risultati devono essere verificate con sieri di controllo o pool preparati dal laboratorio.

Il controllo fornito con il presente kit è specifico per eseguire in laboratorio il controllo di qualità.

Questo controllo dovrà essere testato simultaneamente con ogni serie di analisi e trattato come i campioni dei pazienti. Il range previsto per il controllo è stampato sull'etichetta del controllo.

Valori previsti

Nei sieri di donatori di sangue apparentemente sani (n=100) sono stati rilevati valori di CA 72-4 fino a circa 4 U/mL (95^{mo} percentile).

Poiché i valori di CA 72-4 possono variare in base alle metodiche di laboratorio adottate, ogni laboratorio dovrà stabilire range di riferimento propri.

Limiti della procedura

Pazienti affetti da tumori maligni possono presentare valori di CA 72-4 entro il range normale. Valori elevati di CA 72-4 si possono osservare in pazienti con forme benigne della malattia, quali disfunzioni croniche al fegato o tumori benigni alle ovaie. Pertanto, i livelli di CA 72-4 nel siero non forniscono alcuna prova di presenza o assenza di tumori maligni. Ciò dovrà essere interpretato solo in un contesto di quadro clinico e di altre procedure diagnostiche. L'analisi CA 72-4 non dovrà essere usata come unico criterio per lo screening di tumori. È inoltre possibile rilevare concentrazioni elevate di CA 72-4 in pazienti con carcinoma ai polmoni a cellule non piccole.

HAMA

Campioni di pazienti contenenti anticorpi anti-topo (HAMA) possono in teoria dare valori erroneamente elevati o bassi. Anche se sono aggiunti agenti HAMA neutralizzanti, concentrazioni di siero HAMA estremamente elevate possono occasionalmente influire sui risultati. Questi campioni non dovranno essere usati per l'analisi CA 72-4 IRMA.

Dati analitici

Calibrazione

Il test è stato calibrato in base al dosaggio Fujirebio IRMA CA 72-4®.

Range di misurazione

L'analisi CA 72-4 IRMA misura concentrazioni comprese fra 3 e 100 U/mL.

Effetto gancio

Nessun effetto gancio è stato osservato con concentrazioni di CA 72-4 fino a 1250 U/mL.

Precisione

Variazione intra-analisi Valore medio (U/mL)	CV (%)	n=	Variazione inter-analisi Valore medio (U/mL)	CV (%)	n=
9,1	3,0	3	9,4	14,0	7
24,9	2,5	3	25,3	8,2	7
71,2	1,4	3	68,1	5,4	7

Specificità

L'analisi CA 72-4 IRMA impiega gli anticorpi monoclonali B 72.3 e cc49. Questi anticorpi sono disponibili solo presso Fujirebio, dai suoi concessionari e rappresentanti. I dati sulla specificità degli anticorpi sono riportati nel rispettivo materiale descrittivo (1-5).

Linearità della diluizione

Il siero di un paziente è stato diluito con diluente e quindi misurato. I valori rilevati sono stati confrontati con i valori attesi ottenuti dalla regressione lineare.

Concentrazione originale: 42,7 U/mL

Diluizione	Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
1 : 1,25	34,6	34,7	99,6
1 : 1,7	27,2	25,6	102,6
1 : 2,5	18,3	18,4	99,4

Recupero

In un siero con basso contenuto di CA 72-4 sono state aggiunte quantità diverse di CA 72-4 e quindi è stata eseguita la misurazione.

Concentrazione originale: 1,9 U/mL

Valore misurato (U/mL)	Valore atteso (U/mL)	Recupero (%)
60,6	60,6	100
47,9	48,9	98
25,4	25,4	100

CA 72-4 IRMA

Használati utasitás

REF R0056 50 teszt

Magyar

IVD **Kizárolag szakmai használatra!**

Felhasználási terulet

In vitro assay TAG 72® (tumorhoz-kotodo glikoprotein 72) kvantitativ meghatározásához szérumbol gyomor carcinoma vagy mucinozus tipusu petefészek carcinoma nyomonkovetésére.

A teszt áttekintése és magyarázata

1981-ben Colcher munkatársai monoklonális B72.3 antitestet állitottak elo, egerek emlo karcinoma máj metasztázis frakciojával történo immunizálásával. Egy nagy-molekuláju glikoproteint (MW 220,000 - 1,000,000) mutattak ki B 72.3-vel, mely a mucinok csoportjába tartozott és a TAG 72-hoz kapcsolodott. Egy második monoklonális antitest a cc49 monoklonális antitest 5-10-szer nagyobb affinitást mutatott TAG 72-re. Mindkét antitest más-más oligoszaharid epitopját ismeri fel a TAG 72-nek.

A tumorhoz kotodo antigén TAG 72 szovettani kimutatatása emlo-, tudo-, colon-, gyomor- és petefészek neoplasztikus sejtekbol lehetséges. Más malignus és benignus tumorok, valamint egészséges, érett tuszok nem mutatnak semmilyen reakciot TAG 72 antitestekkel. Az egyetlen kivétel a szekrécios endometrium.

A meghatározás elve

A szendvics tipusu immunoradiometrikus assay két nagy specificitásu monoklonális antitestet használ. A monoklonális cc49 antitest a szilárd fázishoz van kotve (bevonatos cso) a monoklonális B 72.3 antitestet pedig a tracer tartalmazza.

Az elso inkubácios ido alatt a páciens mintában és a kalibrátorokban jelenlévo CA 72-4 kotodik a cso falához kotott antitesthez. A meg nem kotodott anyagok mosással kerulnek eltávolitásra.

A második inkubácios ido alatt a tracerben lévo antitest lép reakcioba a CA 72.4-el és kotodik meg. A második mosással torténo tracer felesleg eltávolitása után a cso falán fennmarado radioaktivitás szcintillácios gamma számlálóval mérheto.

A készlet tartalma

Meghatározások száma	**50**
^{125}I-anti-CA 72-4, monoklonális (egér), piros radioaktivitás (kBq / µCi)	11 mL < 222 /6
5 kalibrátor A-E (0.8 mL) humán szérum albuminban (koncentrácio a minoségi tanusitványon feltontetve)	1 készlet
Assay puffer, kék	6 mL
Higito (0 U/mL) humán szérum albuminban	6 mL
Teszt csovek, anti-CA 72-4 bevonattal, monoklonális (egér)	50
Kontroll, humán, liofilizált (koncentrácio az uveg cimkéjén feltontetve)	1 mL

A CA 72-4® a Fujirebio Diagnostics Inc. védjegye.

Meghatározáshoz szukséges egyéb anyagok

- Mikropipetták (100 µL, 200 µL, 1000 µL) egyszer használatos muanyag heggyel
- Vortex mixer
- Manuális, vagy automata moso, leszivo eszkozzel
- Horizontális rázo
- Szintillácios gamma számlálo
- Automata analizátor rendszer, ha rendelkezésre áll
- Bevonat mentes polisztirol cso a minták és kontrollok higitásához
- Desztillált viz

I-125 tartalmu reagensek

Ez a készlet olyan I-125 tartalmu anyagokat tartalmaz, melyek radioaktivitása nem haladja meg a 6.04 µCi (224 kBq) értéket. Helyes elokészités és megfelelo laboratoriumi gyakorlat szukséges az anyagok tárolásánál, kezelésénél és a hulladékkezelésnél.

Egyetemes szabályok radioizotopok kezeléséhez:

Ezeket a radioaktiv anyagokat csak orvosok, vagy állatorvosok szerezhetik be, birtokolhatják és használhatják humán és állat gyogyászatban, klinikai laboratoriumokban, vagy korházakban kizárolag in vitro klinikai, vagy laboratoriumi tesztekben, melyek nem foglalják magukban a humán, illetve állati szervezet kulso, vagy belso kezelését, arra irányulo sugárzást. Ezen termékek beszerzése, birtoklása, használata szállitása a U.S. Nuclear Regulatory Commission szabályozása alá esik.

1. A radioaktiv anyagokat korulhatárolt, speciálisan jelolt teruleten kell tárolni.
2. A radioaktiv anyagokhoz csak arra jogosult személyek férhetnek.
3. Tilos a radioaktiv ayagok szájjal torténo pipettázása.
4. A radioaktiv munkához kijelolt teruleten enni és inni tilos.
5. A teruletet ahová radioaktiv anyag lottyen ki fel kell torolni, majd alkali detergenssel, vagy radioaktivitást dekontaminálo oldattal kell felmosni. Az uvegedényeket alaposan ki kell obliteni vizzel mielott más laboratoriumi edénnyel egyutt kerulne mosásra.

A radioaktiv anyagok kezelésénél a kovetkezo speciális szabályok érvényesek:

A radioaktiv anyagok kezelésének, használatának, szállitásának és hulladékezelésének szabályozása saját szabályozás alá esik.

FIGYELMEZTETÉS: A készlet olyan vegyuleteket tartalmaz melyek rákkelto hatása ismert.

FIGYELMEZTETÉS: A csomagolás mellékletén feltuntetett radioaktivitás érték némileg eltér a dobozon és a tracer uvegcse cimkéjén feltuntetett radioaktivitás értékektol. A dobozon és a traceres uveg cimkéjén feltuntetett érték a kalibrácio idején mért aktuális radioaktivitást mutatja, mig a csomagolás mellékletént feltuntetett érték a készlet teoretikus radioaktivitását adja meg.

Sodium-azid tartalmu reagensek

FIGYELMEZTETÉS: A készlet néhány reagense sodium-azid-ot tartalmaz. A sodium-azid olom és réz tartalmu vizvezetékekkel reakcioba lépve robbanásveszélyes fém-azidokat képez. A hulladékot bo vizzel erssze le a felszabadulo azidok kitapadásának megakadályozására. További informáciokat a “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts,” in the Manual Guide-Safety Management No. CDC-22 issued by the Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976 olvashat.

Reagensek elokészitése

Mérés elott a teszt valamennyi komponensét helyezze szobahomérsékletre (18–25°C) és alaposan keverje ossze **(Elkerulve a hab képzodést).**

A kontrollt ovatosan kell kinyitni (vacuum) és felodani 1 mL desztillált vizben. Oldáskor kerulje az eros rázást (habosodás). Gyozodjon meg rola, hogy az uvegcse falára kitapadt liofilizált anyag is felododott.

Reagensek tárolása

Feloldott kontroll: 2–8°C-on egy hétig, vagy–20°C-on 4 hétig.

Valamennyi reagens a csomagoláson feltuntetett lejárati ideig 2–8°C-on tárolando.

- **Tárolás alatt tartsa fuggolegesen.**
- **Tartsa távol kozvetelen fénytol.**

Mintevétel, mintatipus és tárolás

- Standard eljárásnak megfelelo mintavételt igényel.
- Mintatipus: szérum; plazma zavaro hatása nem ismert.
- Tárolás 2–8°C-on: 24 ora.
- Hosszabb tároláshoz fagyassza –20°C alá.
- A fagyasztott minta csak egyszer olvaszthato fel.
- A felolvasztott mintákat használat elott alaposan ossze kell keverni (Vortex mixer).
- Ne használjon aglutinált, haemolitikus, lipémiás, icterikus vagy szennyezet mintákat.

Interferálo tényezok

A bilirubin < 0.125 mg/mL, hemoglobin < 500 mg/dL or triglycerid < 12.5 mg/mL koncentrácioban nem okoz interferenciát az eredményben.

Modszer leirás

- A kulonbozo készletek egyes komponenseinek osszemérése nagy korultekintést igényel. Kulonbozo LOT számu komponensek keverése osszecserélése a mérés pontosságának bizonytalanságához vezet.
- Ragaszkodjon a megadott pipettázási sorrendhez.
- A gamma counter mérési idejét legkevesebb 1 percre kell beállitani.
- A készletet tilos a csomagoláson feltuntetett lejárati ido után használni .
- Tartsa szem elott a diagnosztikai laboratoriumok minoségbiztositási irányelveit.
- Ovja a reagenseket a mikrobális szennyzodésektol.

Teszt protokoll

Javasolt a kalibrátorok ás minták duplikátumban torténo mérése.

Amennyiben a várt érték magasabb a legnagyobb koncentrácioju kalibrátor értékénél, a mintát a higitoval meg kell higitani (pl.: 10, 100, 1000-szeres faktorral).

A manuális feldolgozást és az automata analizátor használatát a laboratorium saját felelosségel választhatja.

1. Pipettázzon 100 µL assay puffer minden csobe.
2. Pipettázzon 100 µL kalibrátort, kontrollt, mintát a megfelelo csovekbe, keverje ossze (vortex) és fedje le parafilmmel.
3. Inkubálja 4 orát (± 5 perc) szobahomérsékleten (18–25°C) horizontális rázon.*
4. Szivja le a folyadékot.
5. Mossa a csoveket 3 x 2 mL desztillált vizzel.
6. Adjon 200 µL ^{125}I-anti-CA 72-4 tracer-t valamennyi csohoz, keverje ossze.
7. Inkubálja 18-20 orát 6°C (± 2°)-on.
8. Szivja le a folyadékot.
9. Mossa valamennyi csovet 3 x 2 mL desztillált vizzel.
10. Mérje le valamennyi cso radioaktivitását (CPM, legalább 1 perc).

*** Tartsa a keverési értékeket egyenletesen!**
Optimum:
Amplitudo 20 mm = 150 rpm
Amplitudo 10 mm = 220 rpm
Amplitudo < 8 mm = 300 rpm

---

100 µL	Assay puffer pipettázás
100 µL	Kalibrátor, kontroll, minta bemérés
	Keverés
4 h (± 5 min)	Inkubálás horizontális rázon szobahomérsékleten (18–25°C)*
	Leszivás
3 x 2 mL	Mosás desztillált vizzel
200 µL	^{125}I-anti-CA 72-4 bemérés
	Keverés
18-20 h	Inkubálás 6°C (± 2°C)
	Leszivás
3 x 2 mL	Mosás desztillált vizzel
1 min	Mérés (scintilliácios gammaszámlálo)

*** Tartsa a keverési értékeket egyenletesen!**
Optimum:
Amplitudo 20 mm = 150 rpm
Amplitudo 10 mm = 220 rpm
Amplitudo < 8 mm = 300 rpm

Eredmény kiértékelés

A kalibrácios gorbe manuálisan a kovetkezoképpen határozhato meg:

1. Számolja ki valamennyi cso duplikátum átlag CPM értékét.
2. Ossza el valamennyi kalibrátor átlag CPM értékét (B) a legmagasabb kalibrátor átlag CPM értékével (B_{max}) és szorozza meg 100-al, igy megkapja valamennyi kalibrátor relative beépulési százalékát (%B/B_{max}).
3. Semi-log papiron, ábrázolja a relativ beépulési százalékokat (%B/B_{max}) az Y-tengelyen a hozzátartozo koncentrációk fuggvényében (X-tengelx).
4. Olvassa le a minták koncentrációját (U/mL) a kalibrácios gorbérol a megfelelo relativ beépulési százalék alapján (%B/B_{max}).

Azokat a mintákat, amelyek értéke magasabb, mint a legmagasabb kalibrátor koncentrácioja meg kell higitani higitoval és ujbol le kell mérni. Ezeknek a mintáknak a végso eredményének a meghatározásakor a higitási faktort figyelembe kell venni.
Készulékkel torténo immunoassay kiértékelésénél spline illesztést kell alkalmazni.

Quality Control

Tartsa szem elott a diagnosztikai laboratoriumokra vonatkozo minoségbiztositási alapelveket.
Az eredmények érvényesitéséhez és pontosságának megállapitásához használjon kontroll szérumot, vagy szérum pool-t.
A kontrollt minden futtatásnál egyidejuleg mérni kell, ezek a kontrollok ugy kezelendoek, mintha minták lennének.
A várt kontroll tartomány a kontroll cimkéjén van feltuntetve.

Várt értékek

Látszolag egészséges donorok (n=100) CA 72-4 értéke 4 U/mL (95th percentile) alatti értéket adott.
A CA 72-4 érték laboratoriumi metodika fuggo ,ezért javasolt a saját referencia tartomány felállitása.

Az eljárás korlátai

A rosszindulatu elváltozásu beteg CA 72-4 értéke a normal tartományba eshet. Benignus megbetegedésben szenvedoknél figyelheto meg CA 72-4 emelkedés, igy például kronikus májkárosodásban, benignus ovárium tumorban. Ezért szérum CA 72-4 szintje onmagában nem elegenndo a rosszindulatu elváltozás meglétének, vagy hiányának megállapitásához. Az eredmények csak a klinikai képpel és más diagnosztikai eredményekkel osszefuggésben interpretálhatoak. A CA 72-4 onmagában nem elegendo a tumor monitorozáshoz. A CA 72-4 emelkedése szintén lehetséges nem kis sejtes tudo tumoros betegek esetében is.

HAMA

A beteg minták human anti-egér antitesteket tartalmaznak (HAMA) melyek fals emelkedést, vagy csokkenést eredményezhet. Bár HAMA-neutralizálo ágens kerul hozzáadásra, extreme magas HAMA szérum koncentrácio ritkán befolyásolhatja az eredményt. Ezekhez a mintákhoz nem használhato a CA 72-4 IRMA assay.

Analitikai adatok

Kalibrácio

A teszt hitelesitéséhez a Fujirebio IRMA CA 72-4® assay-t használták.

Mérési tartomány

CA 72-4 IRMA alkalmas a 3 és 100 U/mL kozotti koncentrácio mérésére.

High-dose hook

High-dose hook effektus nem figyelheto meg 1250 U/mL CA 72-4 koncentrácio alatt.

Precizio

Intra-assay variácio Átlag érték (U/mL)	CV (%)	n=	Inter-assay variácio Átlag érték (U/mL)	CV (%)	n=
9.1	3.0	3	9.4	14.0	7
24.9	2.5	3	25.3	8.2	7
71.2	1.4	3	68.1	5.4	7

Specificitás

A CA 72-4 IRMA modszerben B 72.3 és cc49 monoklonáris antitesteket használnak. Ez csak Fujirebio engedélyével és leirásával lehetséges. A specifikus antitestekkel kapcsolatos leirásokat saját irodalmában olvashatja (1-5).

Higitási linearitás

Beteg minták kerultek higitásra és mérésre. A mért és várt értékek osszevetésre kerultek

Eredeti koncentrácio: 42.7 U/mL

Higitás	Mért érték (U/mL)	Várt érték (U/mL)	Visszanyerés (%)
1 : 1.25	34.6	34.7	99.6
1 : 1.7	27.2	25.6	102.6
1 : 2.5	18.3	18.4	99.4

Visszanyerés

Alacsony CA 72-4 tartalmu mintákhoz kulonbozo mennyiségu CA 72-4 kerult hozzáadásra és lemérésre.

Eredeti koncentrácio: 1.9 U/mL

Mért érték (U/mL)	Várt érték (U/mL)	Visszanyerés (%)
60.6	60.6	100
47.9	48.9	98
25.4	25.4	100

IVD **Pouze pro laboratorní použití**

Použití soupravy
IRMA-mat® CA 72-4® je *in vitro* souprava pro kvantitativní stanovení TAG 72 (tumor-associated glycoprotein 72) v séru a plazmě v rámci sledování pacientů s karcinomem žaludku nebo s karcinomem vaječníků mucinózního typu.

Souhrn a vysvětlení testu
V roce 1981 Colcher a spolupracovníci připravili monoklonální protilátku B 72.3 po imunizaci myší pomocí frakce jaterní metastázy karcinomu prsu. Vysokomolekulární glykoprotein (molekulová hmotnost 220 000 až 1 000 000) detekovatelný pomocí B 72.3, patřící do skupiny mucinů, byl označen jako TAG 72. Proti vysoce čištěnému TAG 72 byla vyrobena druhá monoklonální protilátka cc49 s 5- až 10-násobně vyšší afinitou. Obě protilátky rozpoznávají na TAG 72 různé oligosacharidové epitopy.

Histologicky lze detekovat antigen TAG 72 spojený s tumorem v neoplastických buňkách prsu, plic, tlustého střeva, žaludku a vaječníků. Jiné maligní a benigní tumory stejně jako zdravé vyzrálé tkáně nevykazují žádnou reakci na protilátky proti TAG 72. Jedinou výjimkou je děložní sliznice v sekreční fázi.

Princip metody
IRMA-mat® CA 72-4® je imunoradiometrické stanovení založené na sendvičovém principu. Jako pevná fáze (potahovaná zkumavka) je použita monoklonální protilátka cc49 a monoklonální protilátka B 72.3 slouží jako radioindikátor.
Během první inkubace se antigen CA 72-4 přítomný ve vzorcích a standardech naváže na protilátku navázanou na stěnu zkumavky. Nenavázaný materiál se odstraní v promývacím kroku. Během následné druhé inkubace reaguje značená protilátka s již navázaným CA 72-4. Po vymytí nenavázaného radioindikátoru v druhém promývacím kroku se v gama-čítači změří radioaktivita navázaná na stěnu zkumavky.

Reagencie

Počet stanovení	**50**
Monoklonální (myší) protilátka anti-CA 72-4 značená ^{125}I (*^{125}I-anti-CA 72-4)* barvená červeně	11 ml
aktivita (kBq / µCi:	< 222 / 6
5 standardů A-E *(Calibrators A-E)* (0,8 ml) v lidském sérovém albuminu - koncentrace: viz Zpráva o kontrole kvality *(Quality Control Report)*	1 sada
Pufr pro stanovení *(Assay buffer):*	6 ml
Diluent *(Diluent)* (0 U/ml), lidský sérový albumin:	6 ml
Zkumavky potažené monoklonální (myší) protilátkou proti CA 72-4 *(Test tubes):*	50
Kontrolní sérum *(Control)*, lidské, lyofilizát (koncentrace: viz lahvička):	1 ml

CA 72-4® je obchodní název firmy Fujirebio Diagnostics Inc.

Potřebný, ale nedodávaný materiál

- Mikropipety (100 µl, 200 µl, 1000 µl) s vyměnitelnými plastovými špičkami
- Vibrační míchadlo (vortex)
- Ruční nebo automatická promývačka s odsávacím zařízením
- Horizontální třepačka
- Gama-čítač
- - případně vhodný automatický analyzátor
- Nepotažené polystyrenové zkumavky pro naředění séra a kontrol
- Destilovaná nebo deionizovaná voda (v dalším textu označovaná jako destilovaná voda)

Reagencie obsahující ^{125}I

Tato souprava obsahuje radioaktivní materiál, jehož aktivita nepřesahuje 224 kBq (6,04 µCi) ^{125}I. Během zacházení s radioaktivními materiály a při jejich likvidaci je nutno se řídit platnými právními předpisy a zásadami správné laboratorní praxe.

Pro profesionály a instituce, kterým jsou dodávány radioizotopy podle všeobecné licence:

Tento radioaktivní materiál mohou nabývat, získat, přechovávat a používat pouze lékaři a veterinární lékaři na svých pracovištích, klinické laboratoře nebo nemocnice s příslušnými povoleními a pouze pro diagnostické použití in vitro, které nezahrnuje vnitřní nebo vnější podání materiálu nebo záření z něj vycházejícího lidem nebo zvířatům. Jeho nabývání, získání, přechovávání, použití a přeprava se řídí národními předpisy a nařízeními.

1. Skladování radioaktivních materiálů je vyhrazeno pouze v místech k tomu určených.
2. Přístup k radioaktivnímu materiálu je umožněn pouze autorizovaným osobám.
3. Radioaktivní materiály nepipetujte ústy.
4. Na určeném pracovním místě nejezte, nepijte nebo nekuřte.
5. Rozlitý materiál setřete a veškeré kontaminované plochy umyjte pomocí vhodného roztoku saponátu nebo dekontaminačním roztokem. Použité laboratorní sklo má být dostatečně vypláchnuto vodou a teprve poté přidáno k mytí s ostatním nádobím.

Pro profesionály a instituce, kterým jsou dodávány radioizotopy podle specifické licence:

Příjem, použití, doprava a likvidace radioaktivních materiálů podléhají pravidlům a podmínkám vaší specifické licence.

VAROVÁNÍ: Souprava obsahuje karcinogenní chemikálie.

UPOZORNĚNÍ: Množství aktivity uváděné v tomto návodu se může mírně odlišovat od údajů na vnějším obalu a štítku lavičky s radioindikátorem ^{125}I. Údaje na vnějším obalu a štítku lavičky s radioindikátorem uvádějí skutečnou hodnotu aktivity, návod uvádí hodnotu předpokládanou.

Reagencie obsahující azid sodný

UPOZORNĚNÍ: Některé složky tohoto kitu obsahují azid sodný jako konzervans. Azid sodný může reagovat s olověnými či měděnými vodoinstalacemi a vytvářet vysoce výbušné azidy kovových prvků. Při likvidaci zbytků reagencií proplachujte dostatečným množstvím vody, aby bylo zamezeno tvorbě těchto azidů. Podrobnější informace možno nalézt v kapitole „Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts“, v Manual Guide-Safety Management No. CDC-22, vydaného v Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 1976.

Příprava reagencií

- Před provedením testu nechte všechny součásti soupravy vytemperovat na laboratorní teplotu (15 až 25 °C) a důkladně je promíchejte.

- Lahvičku obsahující lyofilizovanou kontrolu nutno otevírat opatrně (vakuum) a rekonstituovat 1 ml destilované vody. Během rozpouštění se vyhněte silnému třepání (pěnění). Zajistěte, aby se rozpustil také lyofilizovaný materiál přichycený na uzávěr.

Skladování reagencií

Rekonstituované kontrolní sérum může být skladováno 1 týden při teplotě 2 až 8 °C nebo 4 týdny při teplotě –20 °C.

Veškeré ostatní reagencie skladujte při teplotě 2 až 8 °C do data exspirace uvedeného na obalu.

- **Uchovávejte ve svislé poloze!**
- **Chraňte před přímým světlem!**

Sběr, příprava a zacházení se vzorkem

- Sběr vzorků se zajišťuje běžnými metodikami.
- Jako vzorek se používá sérum; ani při použití plazmy nejsou známy problémy se stanovením.
- Vzorky se mohou skladovat až 24 hodin při teplotě 2 až 8 °C.
- Pro skladování po delší dobu vzorky zmrazte na teplotu nižší než –20 °C.
- Zmrazené vzorky lze rozpustit pouze jednou.
- Tyto vzorky se musí bezprostředně před použitím důkladně promíchat (vibrační míchadlo).
- Nepoužívejte vzorky, které jsou sražené, lipemické, hemolytické, ikterické nebo kontaminované.

Interference stanovení s jinými analyty

Nebyla pozorována interference s následujícími analyty v hladinách:

< 0,125 mg/ml pro bilirubin

< 500 mg/dl pro hemoglobin

< 12,5 mg/ml pro triglyceridy

Poznámky k postupu

- Jednotlivé složky každého kitu jsou pečlivě vzájemně sladěny. V případě záměny nebo smíchání jakýchkoli složek z různých šarží výrobce nezaručuje spolehlivé výsledky.
- Přísně dodržujte pořadí pipetovacích kroků.
- Čas měření na gama-čítači musí být upraven tak, aby měření radioaktivity trvalo alespoň 1 minutu.
- Tento kit se nesmí používat po datu exspirace uvedeném na obalu balení.
- Dodržujte pokyny pro kontrolu kvality v klinických laboratořích.

  Zamezte mikrobiální kontaminaci reagencií.

Postup testu

Doporučuje se stanovovat standardy a vzorky v duplikátech.
Pokud se očekávají výsledky vyšší než hodnota nejvyššího standardu, musí se vzorky naředit diluentem (faktory např. 10, 100, 1000).

Jako alternativu k manuálnímu stanovení a jeho vyhodnocení lze použít odpovídající automatický analytický systém (na vlastní odpovědnost laboratoře).

1. Na dno odpovídající potahované zkumavky napipetujte 100 µl pufru pro stanovení.
2. Přidejte vždy 100 µl standardu, kontroly nebo vzorku, promíchejte (vortex) a zakryjte plastikovou folií.
3. Inkubujte 4 hodiny (± 5 minut) při laboratorní teplotě (18 až 25 °C) na třepačce*.
4. Odsajte tekutinu.
5. Každou zkumavku promyjte 3 x 2 ml destilované vody.
6. Přidejte 200 µl ^{125}I-anti-CA 72-4 a promíchejte.
7. Inkubujte 18 až 20 hodin při teplotě 6 °C (± 2 °C).
8. Odsajte tekutinu.

9. Každou zkumavku promyjte 3 x 2 ml destilované vody.
10. Ve všech zkumavkách změřte radioaktivitu (cpm), doba měření nejméně 1 minuta.

Schéma pracovního postupu	
100 µl	Napipetujte pufr pro stanovení
100 µl	Přidejte standard, kontrolu nebo vzorek
	Promíchejte
4 h (± 5 min)	Inkubujte při laboratorní teplotě (15 až 25 °C) na třepačce*
	Odsajte
3 x 2 ml	Promyjte destilovanou vodou
200 µl	Přidejte ^{125}I-anti-CA 72-4
	Odsajte
3 x 2 ml	Promyjte destilovanou vodou
1 min	Změřte (gama-čítač)

*** Podmínky třepání udržujte konstantní!**
Optimum:
Amplituda 20 mm = 150 otáček za minutu (rpm)
Amplituda 10 mm = 220 otáček za minutu (rpm)
Amplitude < 8 mm = 300 otáček za minutu (rpm)

Výpočet výsledků

Kalibrační křivka je manuálně stanovena takto:

1. Pro každý pár duplikátních zkumavek stanovte střední hodnotu cpm (počet impulsů za minutu).
2. Vydělte střední hodnotu cpm každého standardu (B) střední hodnotou cpm nejvyššího standardu (B_{max}) a vynásobte 100x k získání procenta relativní vazby (%B/B_{max}) pro každý standard.
3. Na semilogaritmickém papíru vyneste relativní vazbu každého standardu na osu Y proti odpovídajícím koncentracím na ose X.
4. Koncentrace vzorků (U/ml) odečtěte přímo z kalibrační křivky podle odpovídající hodnoty relativní vazby (%B/B_{max}).

Vzorky s četností impulsů vyššími než nejvyšší standard se musí naředit diluentem ze soupravy a znovu stanovit. Skutečné koncentrace naředěných vzorků se zjistí po vynásobení dilučním faktorem. Zpráva o kontrole kvality obsahuje příklad kalibrační křivky. Tato křivka se nesmí použít při výpočtu neznámých vzorků.

Při hodnocení radioimunologického stanovení pomocí výpočetní techniky použijte výpočet typu spline.

Kontrola kvality

Dodržujte pokyny pro kontrolu kvality v klinických laboratořích.

Validita a přesnost výsledků se musí kontrolovat pomocí kontrolních sér nebo sér připravených laboratoří.

Kontrolní sérum obsažené v kitu je vhodně upraveno pro použití při interní kontrole prováděné v laboratoři.

Toto kontrolní sérum se musí testovat současně v jedné sérii analýz za stejných podmínek jako vzorky.

Očekávané hodnoty

Séra zdravých dárců krve (n=100) vykazují hodnoty CA 72-4 až do přibližně 4 U/ml (95 %).

Vzhledem k tomu, že hodnoty CA 72-4 se mohou lišit v závislosti na použité laboratorní metodě, musí si každá laboratoř stanovit své vlastní referenční rozmezí.

Omezení metodiky

Pacienti s maligním onemocněním mohou vykazovat hodnoty CA 72-4 v normálním rozmezí. Zvýšené hodnoty CA 72-4 lze pozorovat u pacientů s benigními chorobami, jako je chronické poškození jater nebo benigní ovariální tumory. Sérové hodnoty CA 72-4 tedy neposkytují žádný důkaz přítomnosti nebo nepřítomnosti malignit. Lze je interpretovat pouze v kontextu s klinickým obrazem a jinými diagnostickými postupy. Stanovení CA 72-4 jako jediné kritérium by nemělo být použito při screeningu maligního onemocnění. Zvýšené koncentrace CA 72-4 se mohou také objevit u pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic.

HAMA

Vzorky pacientů obsahující lidské protilátky proti myším protilátkám (HAMA) mohou vykazovat falešně zvýšené nebo snížené hodnoty. Ačkoliv se k testovacím reagenciím přidávají látky neutralizující HAMA, mohou extrémně vysoké sérové koncentrace HAMA zapříčinit nesprávnost výsledků. Tyto vzorky se nesmějí pro stanovení IRMA-mat® CA 72-4® použít.

Analytické parametry soupravy

- **Kalibrace**

  Souprava byla kalibrována za použití Fujirebio IRMA CA 72-4.

- **Rozsah měření**

  IRMA-mat® CA 72-4® umožňuje měření koncentrací mezi 3 a 100 U/ml.

- **High-dose hook**

  Při hladinách CA 72-4 do hodnoty 1250 U/ml nebyl uvedený jev pozorován.

- **Přesnost**

Intra-assay			**Inter-assay**		
Mean (U/ml)	CV (%)	n =	Mean (U/ml)	CV (%)	n =
9,1	3,0	3	9,4	14,0	7
24,9	2,5	3	25,3	8,2	7
71,2	1,4	3	68,1	5,4	7

- **Specificita**

Souprava IRMA-mat® CA 72-4® využívá monoklonální protilátky B 72.3 a cc49, které jsou dostupné pouze v rámci společnosti Fujirebio, jejím obchodním partnerům a zástoupením. Informace ohledně specificity protilátek lze vyhledat v odborné literatuře (1-5, viz citace v originál návodu k použití).

- **Linearita při ředění**

Vzorek byl naředěn diluentem a poté změřen. Naměřené hodnoty byly porovnány s hodnotami očekávanými pomocí výpočtu lineární regresí.

Původní koncentrace: 42,7 U/ml.

Ředění	Změřená hodnota (U/ml)	Očekávaná hodnota (U/ml)	Recovery (%)
1:1,25	34,6	34,7	99,6
1:1,7	27,2	25,6	102,6
1:2,5	18,3	18,4	99,4

- **Recovery**

  Ke vzorku s nízkou koncentrací CA 72-4 byla přidána různá množství CA 72-4.
  Původní koncentrace: 1,9 U/ml.

Změřená hodnota (U/ml)	Očekávaná hodnota (U/ml)	Recovery (%)
60,6	60,6	100
47,9	48,9	98
25,4	25,4	100

CA 72-4 IRMA — Οδηγίες χρήσης

ΑΝΑΦ R0056 — 50 εξετάσεις — Ελληνικά

IVD — Μόνο για χρήση από επαγγελματίες!

Χρήση για την οποία προορίζεται

Εξέταση *in vitro* για τον ποσοτικό προσδιορισμό του TAG 72® (γλυκοπρωτεΐνη 72 που σχετίζεται με νεόπλασμα) σε ορό κατά την παρακολούθηση ασθενών με γαστρικό καρκίνωμα ή καρκίνωμα ωοθηκών βλεννώδους τύπου.

Περίληψη και ερμηνεία της δοκιμής

Το 1981, ο Colcher και οι συνεργάτες του παρασκεύασαν το μονοκλωνικό αντίσωμα B 72.3 μετά την ανοσοποίηση ποντικών με ένα κλάσμα μετάστασης ήπατος ενός μαστικού καρκινώματος. Η γλυκοπρωτεΐνη υψηλού μοριακού βάρους (MB 220.000 έως 1.000.000) που ανιχνεύεται με το B 72.3 και ανήκει στην ομάδα των βλεννινών ονομάστηκε TAG 72. Το δεύτερο μονοκλωνικό αντίσωμα cc49 με πενταπλάσια έως δεκαπλάσια συγγένεια παράχθηκε έναντι υψηλά κεκαθαρμένου TAG 72. Και τα δύο αντισώματα αναγνωρίζουν διαφορετικά ολιγοσακχαρικά επίτοπα του TAG 72.

Η ιστολογική ανίχνευση του σχετιζόμενου με νεόπλασμα αντιγόνου TAG 72 είναι δυνατή σε νεοπλαστικά κύτταρα του μαστού, του πνεύμονα, του κόλου, του στομάχου και των ωοθηκών. Άλλα κακοήθη και καλοήθη νεοπλάσματα, καθώς και υγιή, ώριμοι ιστοί, δεν παρουσιάζουν καμία αντίδραση στα αντισώματα TAG 72. Η μόνη εξαίρεση είναι το εκκριτικό ενδομήτριο.

Αρχές της διαδικασίας

Ανοσοραδιομετρικός προσδιορισμός δύο θέσεων (αρχή σάντουιτς) με χρήση δύο μονοκλωνικών αντισωμάτων υψηλής ειδικότητας. Το μονοκλωνικό αντίσωμα cc49 χρησιμοποιείται για την επικάλυψη της στερεάς φάσης (επικαλυμμένος δοκιμαστικός σωλήνας) και το μονοκλωνικό αντίσωμα B 72.3 χρησιμοποιείται ως ιχνηθέτης.

Κατά την πρώτη επώαση, το CA 72-4 που υπάρχει στα δείγματα ασθενών και στους βαθμονομητές δεσμεύεται στο αντίσωμα που έχει ακινητοποιηθεί στο τοίχωμα του δοκιμαστικού σωλήνα. Το αδέσμευτο υλικό απομακρύνεται με ένα βήμα πλύσης.

Κατά τη δεύτερη επώαση, το αντίσωμα ιχνηθέτης αντιδρά με το CA 72-4 που έχει ήδη δεσμευτεί. Μετά την απομάκρυνση του παραπανίσιου ιχνηθέτη με ένα δεύτερο βήμα πλύσης, μετριέται η ραδιενέργεια που παραμένει στο τοίχωμα του δοκιμαστικού σωλήνα με μετρητή σπινθηρισμών γάμα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ Υλικά που παρέχονται

Προσδιορισμοί	**50**
^{125}I-anti-CA 72-4, μονοκλωνικό (ποντικού), ερυθρό περιεχόμενο ραδιενέργειας (kBq / µCi)	11 mL < 222 /6
5 βαθμονομητές A έως E (0,8 mL) σε λευκωματίνη ανθρώπινου ορού (για συγκεντρώσεις, ανατρέξτε στην αναφορά ποιοτικού ελέγχου)	1 σετ
Ρυθμιστικό διάλυμα προσδιορισμού, κυανό	6 mL
Αραιωτικό (0 U/mL) σε λευκωματίνη ανθρώπινου ορού	6 mL
Δοκιμαστικοί σωλήνες, επικαλυμμένοι με anti-CA 72-4, μονοκλωνικό (ποντικού)	50
Υλικό ελέγχου, ανθρώπινο, λυοφιλιώμενο (για συγκεντρώσεις, βλ. ετικέτα φιαλιδίου)	1 mL

CA72-4® είναι εμπορικό σήμα κατατεθέν της Fujirebio Diagnostics Inc.

Υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται

- Μικροπιπέτες (100 µL, 200 µL, 1000 µL) με αναλώσιμες πλαστικές μύτες
- Όργανο περιδίνησης (vortex)
- Χειροκίνητη ή αυτόματη συσκευή πλύσης με συσκευή αναρρόφησης
- Οριζόντιος αναδευτήρας
- Μετρητής σπινθηρισμών γάμα
- Εναλλακτικά, ένα κατάλληλο αυτοματοποιημένο σύστημα αναλυτή, αν διατίθεται
- Δοκιμαστικοί σωλήνες πολυστυρενίου χωρίς επικάλυψη για την αραίωση του ορού και των υλικών ελέγχου
- Κεκαθαρμένο νερό

Αντιδραστήρια που περιέχουν ιώδιο 125

Το κιτ αυτό περιέχει ραδιενεργό υλικό το οποίο δεν υπερβαίνει τα 6,04 µCi (224 kBq) σε ιώδιο 125. Κατά τη φύλαξη, το χειρισμό και τη διάθεση του υλικού αυτού, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλες προφυλάξεις και καλές εργαστηριακές πρακτικές.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από γενική άδεια:

Το παρόν ραδιενεργό υλικό μπορεί να ληφθεί, να αποκτηθεί, να κατέχεται και να χρησιμοποιείται μόνο από ιατρούς, κτηνίατρους που ασκούν κτηνιατρική ιατρική, κλινικά εργαστήρια ή νοσοκομεία και μόνο για κλινικές ή εργαστηριακές δοκιμές in vitro που δεν περιλαμβάνουν την εσωτερική ή εξωτερική χορήγηση του υλικού, ή της ακτινοβολίας αυτού, σε ανθρώπους και ζώα. Η παραλαβή, η απόκτηση, η κατοχή, η χρήση και η μεταφορά υπόκεινται στους κανονισμούς και τη γενική άδεια της Ρυθμιστικής Επιτροπής Πυρηνικών των Η.Π.Α. (NRC) ή της πολιτείας με την οποία η επιτροπή έχει συνάψει συμφωνία για την άσκηση καθηκόντων αρμόδιας αρχής.

1. Η φύλαξη του ραδιενεργού υλικού θα πρέπει να περιοριστεί σε ειδικά επισημασμένο χώρο.
2. Η πρόσβαση σε ραδιενεργά υλικά πρέπει να περιοριστεί μόνο σε εξουσιοδοτημένο προσωπικό.
3. Μη χρησιμοποιείτε πιπέτα με το στόμα για ραδιενεργά διαλύματα.
4. Μην τρώτε ή πίνετε εντός των χώρων εργασίας που έχουν επισημανθεί ως ραδιενεργοί.
5. Οι περιοχές, όπου ενδεχομένως έχουν προκληθεί εκχύσεις, θα πρέπει να σκουπιστούν και κατόπιν να πλυθούν με αλκαλικό απορρυπαντικό ή ραδιολογικό απολυμαντικό διάλυμα. Τυχόν γυάλινα σκεύη χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να εκπλυθούν καλά με νερό πριν από την πλύση άλλων εργαστηριακών γυάλινων σκευών.

Προς ιατρούς ή ιδρύματα που παραλαμβάνουν ραδιοϊσότοπα κάτω από ειδική άδεια:

Η παραλαβή, η χρήση, η μεταφορά και η διάθεση των ραδιενεργών υλικών υπόκεινται στους κανονισμούς και τις συνθήκες της ειδικής άδειάς σας.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Το προϊόν αυτό περιέχει μια χημική ουσία η οποία είναι γνωστό από την πολιτεία της Καλιφόρνια ότι προκαλεί καρκίνο.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Η ραδιενέργεια που αναγράφεται στο ένθετο συσκευασίας μπορεί να διαφέρει ελαφρώς από τη ραδιενέργεια που αναγράφεται στην ετικέτα συσκευασίας ή στην ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη. Η ετικέτα συσκευασίας και η ετικέτα φιαλιδίου ιχνηθέτη υποδεικνύουν την πραγματική ποσότητα ραδιενέργειας κατά την ημερομηνία βαθμονόμησης, ενώ το ένθετο συσκευασίας υποδεικνύει τη θεωρητική ραδιενέργεια του κιτ.

Αντιδραστήρια που περιέχουν αζίδιο του νατρίου

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μερικά αντιδραστήρια στο κιτ αυτό περιέχουν αζίδιο του νατρίου. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τις σωληνώσεις μολύβδου ή χαλκού και να σχηματίσει εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά την απόρριψη, εκπλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού για να εμποδίσετε τη συσσώρευση αζιδίων. Για πρόσθετες πληροφορίες, ανατρέξτε στην ενότητα “Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts”, στον οδηγό διαχείρισης ασφάλειας με κωδικό CDC-22 που εκδίδεται από τα Κέντρα για τον Έλεγχο και την Πρόληψη Νόσων στην Ατλάντα της Τζόρτζια, 1976.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Αφήστε τα συστατικά της εξέτασης να φτάσουν θερμοκρασία δωματίου (18–25°C) πριν την εξέταση και αναμίξτε καλά. **(Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού).**

Πρέπει να ανοίξετε το υλικό ελέγχου προσεκτικά (κενό) και να εκτελέστε ανασύσταση με 1 mL κεκαθαρμένου νερού. Αποφύγετε την έντονη ανακίνηση κατά την διάλυση (σχηματισμός αφρού). Βεβαιωθείτε ότι έχει διαλυθεί και το λυοφιλιώμενο υλικό που είναι προσκολλημένο στο καπάκι.

Φύλαξη αντιδραστηρίων

Ανασυσταθέν υλικό ελέγχου: 1 εβδομάδα στους 2 έως 8°C ή 4 εβδομάδες στους –20°C.

Φυλάσσετε όλα τα αντιδραστήρια στους 2 έως 8°C την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας.

- **Διατηρήστε σε όρθια θέση κατά τη φύλαξη.**
- **Μακριά από άμεσο φως.**

Δειγματοληψία, υλικά και φύλαξη

- Συλλέξτε δείγματα με χρήση πρότυπων διαδικασιών.
- Υλικά δείγματος: Ορός. Δεν είναι γνωστές οι διαταραχές λόγω του πλάσματος.
- Φυλάσσετε στους 2 έως 8°C: 24 ώρες.
- Για μεγαλύτερους χρόνους φύλαξης, καταψύξτε σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από -20°C.
- Τα κατεψυγμένα δείγματα θα πρέπει να αποψυχθούν μόνο μία φορά.
- Θα πρέπει να αναμιγνύεται καλά τα αποθηκευμένα δείγματα πριν από τη χρήση (σε όργανο περιδίνησης).
- Μη χρησιμοποιείτε δείγματα με συγκολλήσεις ή λιπαιμικά, αιμολυμένα, ικτερικά ή μολυσμένα δείγματα.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Δεν έχει παρατηρηθεί παρεμβολή με τα αποτελέσματα της εξέτασης σε συγκεντρώσεις χολερυθρίνης < 0,125 mg/mL, αιμοσφαιρίνης < 500 mg/dL ή τριγλυκεριδίων < 12,5 mg/mL.

Διαδικαστικές σημειώσεις

- Υπάρχει προσεκτική αντιστοιχία μεταξύ των ξεχωριστών συστατικών κάθε κιτ. Σε περίπτωση ανταλλαγής ή ανάμιξης οποιωνδήποτε συστατικών από διαφορετικές παρτίδες, ο κατασκευαστής δεν εγγυάται την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.
- Τηρήστε αυστηρά τη σειρά των βημάτων διανομής με πιπέτα.
- Ο χρόνος μέτρησης στο μετρητή γάμα πρέπει να ρυθμιστεί για μέτρηση 1 τουλάχιστον λεπτού.
- Αυτό το κιτ δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας.
- Τηρήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες ποιοτικού ελέγχου για ιατρικά εργαστήρια.
- Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων.

Διαδικασία εξέτασης

Συνιστάται οι βαθμονομητές και τα δείγματα να προσδιορίζονται εις διπλούν.

Σε περίπτωση που αναμένονται τιμές πάνω από τη συγκέντρωση του υψηλότερου βαθμονομητή, θα πρέπει να αραιώσετε τα δείγματα περαιτέρω με το αραιωτικό (π.χ. παράγοντες 10, 100, 1000).

Ως εναλλακτικό της χειροκίνητης απόδοσης και αξιολόγησης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα κατάλληλο σύστημα αυτοματοποιημένης ανάλυσης με ευθύνη του εργαστηρίου.

1. Τοποθετήστε με πιπέτα 100 µL ρυθμιστικού διαλύματος προσδιορισμού σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες.
2. Τοποθετήστε με πιπέτα 100 µL από κάθε βαθμονομητή, υλικό ελέγχου ή δείγματος ασθενή, αναμίξτε (όργανο περιδίνησης) και καλύψτε με πλαστική μεμβράνη.
3. Επωάστε για 4 ώρες (± 5 λεπτά) σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) σε οριζόντιο αναδευτήρα.*

4. Αναρροφήστε το υγρό.
5. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3 φορές με 2 mL κεκαθαρμένου νερού.
6. Προσθέστε 200 µL ^{125}I-anti-CA 72-4 και αναμίξτε σε όργανο περιδίνησης.
7. Επωάστε για 18 έως 20 ώρες στους 6°C (± 2°).
8. Αναρροφήστε το υγρό.
9. Πλύνετε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες 3 φορές με 2 mL κεκαθαρμένου νερού.
10. Μετρήστε τη ραδιενέργεια (CPM) σε όλους τους δοκιμαστικούς σωλήνες (1 τουλάχιστον λεπτό).

100 µL	Τοποθετήστε με πιπέτα ρυθμιστικό διάλυμα.
100 µL	Προσθέστε βαθμονομητή, υλικό ελέγχου ή δείγμα ασθενή.
	Ανάμιξη
4 ώρες (± 5 λεπτά)	Επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (18 έως 25°C) με αναδευτήρα*
	Αναρρόφηση
3 x 2 mL	Πλύνετε με κεκαθαρμένο νερό.
200 µL	Προσθέστε ^{125}I-anti-CA 72-4
	Ανάμιξη
18 έως 20 ώρες	Επωάστε σε όρθια θέση στους 6°C (± 2°C)
	Αναρρόφηση
3 x 2 mL	Πλύνετε με κεκαθαρμένο νερό.
1 λεπτό	Μετρήστε (μετρητής σπινθηρισμών γάμα)

*** Διατηρήστε σταθερές τις συνθήκες ανάδευσης!**
Βέλτιστες συνθήκες:
Ύψος 20 χλστ. = 150 σ.α.λ.
Ύψος 10 χλστ. = 220 σ.α.λ.
Ύψος < 8 χλστ. = 300 σ.α.λ.

Υπολογισμός αποτελεσμάτων

Μπορείτε να υπολογίσετε την καμπύλη βαθμονόμησης ως εξής:

1. Υπολογίστε το μέσο CPM για κάθε ζεύγος δοκιμαστικών σωλήνων.
2. Διαιρέστε το μέσο CPM κάθε βαθμονομητή (B) με το μέσο CPM του υψηλότερου βαθμονομητή (B_{max}) και πολλαπλασιάστε με 100 για να έχετε το ποσοστό της σχετικής δέσμευσης (%B/B_{max}) για κάθε βαθμονομητή.
3. Σε ημιλογαριθμικό χαρτί, σχεδιάστε τις σχετικές δεσμεύσεις για κάθε βαθμονομητή (%B/B_{max}) στον άξονα Y συναρτήσει των αντίστοιχων συγκεντρώσεων στον άξονα X.
4. Μπορείτε κατόπιν να υπολογίσετε τις συγκεντρώσεις των δειγμάτων (U/mL) κατευθείαν από την καμπύλη βαθμονόμησης με τη βοήθεια της αντίστοιχης σχετικής δέσμευσής τους (%B/B_{max}).

Τα δείγματα με κρούσεις πάνω από την υψηλότερη συγκέντρωση βαθμονομητή πρέπει να αραιωθούν με το αραιωτικό του κιτ και να προσδιοριστούν ξανά. Για την τελική συγκέντρωση τέτοιων δειγμάτων, πρέπει να ληφθεί υπόψη ο κατάλληλος παράγοντας αραίωσης.

Ο υπολογισμός με όργανο των ραδιοανοσολογικών μετρούμενων τιμών βασίζεται στη χρήση της προσαρμογής spline.

Ποιοτικός έλεγχος

Τηρήστε τις κατευθυντήριες οδηγίες ποιοτικού ελέγχου για ιατρικά εργαστήρια.

Θα πρέπει να ελέγχετε την εγκυρότητα και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων με ορό ελέγχου ή μίγμα από ορούς που έχει παρασκευαστεί από το εργαστήριο.

Το υλικό ελέγχου που συμπεριλαμβάνεται στο κιτ αυτό είναι κατάλληλο για εσωτερικό ποιοτικό έλεγχο στο εργαστήριο.

Θα πρέπει να εξετάζετε αυτό το υλικό ελέγχου ταυτόχρονα σε κάθε εκτέλεση εξέτασης και να το χειρίζεστε όπως τα δείγματα ασθενών. Η αναμενόμενη περιοχή τιμών του υλικού ελέγχου αναγράφεται στην ετικέτα του υλικού ελέγχου.

Αναμενόμενες τιμές

Ο ορός φαινομενικά υγιών αιμοδοτών (n=100) παρουσιάζει τιμές CA 72-4 έως περίπου 4 U/mL (95^{o} εκατοστημόριο).

Επειδή οι τιμές CA 72-4 μπορούν να διαφέρουν ανάλογα με την εργαστηριακή μέθοδο που χρησιμοποιείται, κάθε εργαστήριο θα πρέπει να πιστοποιήσει τη δική του περιοχή τιμών αναφοράς.

Περιορισμοί της διαδικασίας

Ασθενείς με κακοήθειες ενδεχομένως να παρουσιάσουν τιμές CA 72-4 εντός του φυσιολογικού εύρους. Ενδεχομένως να παρατηρηθούν τιμές CA 72-4 σε ασθενείς με καλοήθεις νόσους όπως χρόνιες ηπατικές βλάβες ή καλοήθη νεοπλάσματα ωοθηκών. Επομένως, τα επίπεδα ορού CA 72-4 δεν παρέχουν ενδείξεις της ύπαρξης ή απουσίας κακοηθειών. Η ερμηνεία μπορεί να γίνει μόνο σε συνδυασμό με κλινικά ευρήματα και άλλες διαγνωστικές διαδικασίες. Δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί ο προσδιορισμός CA 72-4 ως το μόνο κριτήριο για την ανίχνευση καρκίνου. Ενδεχομένως να παρατηρηθούν αυξημένες συγκεντρώσεις CA 72-4 σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνευμόνων.

HAMA

Δείγματα ασθενών που περιέχουν ανθρώπινα αντισώματα έναντι ποντικιού (HAMA) ενδεχομένως να παρουσιάσουν ψευδώς αυξημένες ή μειωμένες τιμές. Αν και προστίθενται μέσα εξουδετέρωσης HAMA, οι εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις HAMA στον ορό ενδεχομένως να επηρεάσουν περιστασιακά τα αποτελέσματα. Τα δείγματα αυτά δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό IRMA-mat® CA 72-4®.

Αναλυτικά δεδομένα

Βαθμονόμηση

Η εξέταση έχει βαθμονομηθεί με χρήση του προσδιορισμού Fujirebio IRMA CA 72-4®.

Περιοχή τιμών μέτρησης

Το IRMA-mat CA 72-4 μετράει συγκεντρώσεις μεταξύ 3 και 100 U/mL.

Φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης

Δεν παρατηρήθηκε φαινόμενο «άγκιστρου» υψηλής δόσης για συγκεντρώσεις CA 72-4 έως 1250 U/mL.

Ακρίβεια

Διακύμανση στον ίδιο προσδιορισμό			Διακύμανση μεταξύ σειράς προσδιορισμών		
Μέση τιμή (U/mL)	ΣΔ (%)	n=	Μέση τιμή (U/mL)	ΣΔ (%)	n=
9,1	3,0	3	9,4	14,0	7
24,9	2,5	3	25,3	8,2	7
71,2	1,4	3	68,1	5,4	7

Ειδικότητα

Ο προσδιορισμός IRMA-mat CA 72-4 χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα B 72.3 και cc49. Αυτά διατίθενται μόνο από την Fujirebio, τους αδειούχους και τους αντιπροσώπους της. Στη σχετική βιβλιογραφία (1-5), περιγράφονται πληροφορίες σχετικά με την ειδικότητα των αντισωμάτων.

Γραμμικότητα κατά την αραίωση

Αραιώθηκε ορός ασθενή με αραιωτικό και κατόπιν μετρήθηκε. Οι μετρούμενες τιμές συγκρίθηκαν με τις αναμενόμενες τιμές που λήφθηκαν από γραμμική παλινδρόμηση.

Αρχική συγκέντρωση: 42,7 U/mL

Αραίωση	Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
1 : 1,25	34,6	34,7	99,6
1 : 1,7	27,2	25,6	102,6
1 : 2,5	18,3	18,4	99,4

Ανάκτηση

Ορός από ασθενή με χαμηλή συγκέντρωση CA 72-4 μολύνθηκε με διαφορετικές ποσότητες CA 72-4 και κατόπιν μετρήθηκε.

Αρχική συγκέντρωση: 1,9 U/mL

Μετρούμενη τιμή (U/mL)	Αναμενόμενη τιμή (U/mL)	Ανάκτηση (%)
60,6	60,6	100
47,9	48,9	98
25,4	25,4	100

References – Bibliografia – Références – References – Bibliografía – Irodalom – Odkazy – Βιβλιογραφία

1. Johnson BG, Schlom J, Paterson AJ, Bennett J, Magnani JL, Colcher D. Analysis of a human tumor-associated glycoprotein (TAG-72) identified by monoclonal antibody B72.3. Cancer Res. 1986; **46(2)**: 850-857.

2. Lan MS, Bast RC, Jr, Colnaghi MI, Knapp RC, Colcher D, Schlom J, Megzgar RS. Co-expression of human cancer associated epitopes on mucin molecules. J Cancer 1987; **39(1)**: 68-72.

3. Colcher D, Paterson A, Sears H, Schlom J. Use of monoclonal antibody B72.3 to detect a circulating tumor-associated glycoprotein (TAG-72) in the serum of colon carcinoma patients (meeting abstract). Hybridoma 1985; **4(1)**: 71.

4. Paterson AJ, Schlom J, Sears HF, Bennet J, Colcher D. A radioimmunoassay for the detection of a human tumor-associated glycoprotein (TAG-72) using monoclonal antibody B72.3. Int. J.Cancer 1986; **37(5)**: 659-666.

5. Klug TL, Sattler MA, Colcher D, Schlom J. Monoclonal antibody immunoradiometric assays for an antigenic determinant (CA 72-4) on a novel pancarcinoma antigen (TAG-72). Int. J. Cancer 1986; **38(5):** 661-669.

SYMBOLS USED WITH DEVICES

	English	Français	Deutsch	Español	Italiano
CE	European Conformity	Conformité aux normes européennes	CE – Konformitäts-kennzeichnung	Conformidad europea	Conformità europea
	Expiration Date	Date limite d'utilisation	Mindesthaltbar-keitsdatum	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Manufacturer	Fabricant	Hersteller	Fabricante	Fabbricante
	Consult Instructions for Use	Consulter les instructions d'utilisation	Gebrauchsanwei-sung beachten	Consulte las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso
IVD	In vitro diagnostic.	Diagnostic in vitro.	In-vitro-Diagnostikum.	Diagnóstico in vitro.	Diagnostica in vitro.
LOT	Lot No.	No. de lot	Chargen-Nr.	Número de lote	Lotto n°
	Temperature limitation.	Limitation de température.	Temperaturbereich	Limitación de temperatura	Limite della temperatura
CAL	Calibrator	Étalon	Kalibrator	Calibrador	Calibratore
CONTROL	Control serum	Sérum de contrôle	Kontrollserum	Suero de control	Siero di controllo
Ab ^{125}I	Tracer: antibody labelled with ^{125}I	Traceur : anticorps marqué à l'iode ^{125}	Tracer: ^{125}I-markierter Antikörper	Trazador: anticuerpo etiquetado con ^{125}I	Tracciatore: anticorpo etichettato con ^{125}I
DIL SPE	Sample diluent	Diluant d'échantillon	Proben-Diluent	Diluyente de muestras	Diluente campione
RCNS X mL	Reconstitute with X mL	Reconstituer avec X mL	Mit X mL auflösen	Reconstitución con X mL	Ricostituire con X mL
SORB	Solid phase Coated tubes	Phase solide Tubes enduits	Festphase Beschichtete Teströhrchen	Fase sólida Tubos recubiertos	Fase solida Cannule con rivestimento.
	Radioactive	Radioactif	Radioaktiv	Radiactivo	Radioattivo

SYMBOLS USED WITH DEVICES CONTINUED ON NEXT PAGE.

CONTINUED FROM PREVIOUS PAGE - SYMBOLS USED WITH DEVICES

	Magyar	Česky	Ελληνικά
	European Conformity	Evropská shoda	Ευρωπαϊκή Συμμόρφωση
	Lejárati ido	Datum exspirace	Ημερομηνία Λήξης
	Gyárto	Výrobce	Κατασκευαστής
	Felhasználoi utmutato	Srovnejte s návodem pro použití	Συμβουλευτείτε τις Οδηγίες Χρήσης
IVD	In vitro diagnosztika	In vitro diagnostika	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν.
LOT	Lot-szám	Číslo šarže	Αρ. παρτίδας
	Homérséklet tartomány	Teplotní omezení	Περιορισμοί θερμοκρασίας
CAL	Kalibrátor	Kalibrátor	Βαθμονομητής
CONTROL	Kontroll	Kontrolní sérum	Ορός μάρτυρα
Ab ^{125}I	Tracer: ^{125}I-tel jelolt antitest	Protilátka značená 125I	Ιχνηθέτης: Αντίσωμα σημασμένο με ^{125}I
DIL SPE	Minta higito	Diluent vzorku	Αραιωτικό δείγματος
RCNS X mL	Felodani X mL	Rozpusťte v X ml	Ανασύσταση με X mL
SORB	Szilárd fazes, bevonatos cso	Zkumavky potažené pevnou fází	Στερεή φάση Επικαλυμμένοι δοκιμαστικοί σωλήνες
	Radioaktiv	Radioaktivita	Επιβλαβής







DiaSorin Inc.
1951 Northwestern Avenue
P.O. Box 285
Stillwater, MN 55082-0285



DiaSorin S.p.A.,
13040 Saluggia (VC) Italy

Phone: 651-439-9710
FAX: 651-351-5669

28704
9560020 12/04

PRINTED IN U.S.A.